

# TESIS DOCTORAL

*Potencial influencia de Klotho y de la función renal sobre el valor pronóstico de los componentes del metabolismo mineral en pacientes con enfermedad coronaria*



**Universidad Autónoma de Madrid**

Departamento de Medicina

**Carlos Gutiérrez Landaluce**

**Licenciado en Medicina**

**Especialista en Cardiología**

Director: José Tuñón Fernández

Codirectores: Luis Alonso Pulpón Rivera y Ana Blasco Lobo

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, tengo que agradecer al Profesor José Tuñón. Sin él este proyecto no habría sido posible. Me ha guiado, me ha enseñado y ha confiado en mí. Ha sido un privilegio poder trabajar con alguien que es tan buen profesional como persona. Tengo que agradecerle su paciencia infinita y permanente disponibilidad. Pero sobre todo, quiero agradecerle que me haya dado la oportunidad de trabajar con él y el resto de su equipo, de los cuales he aprendido muchas cosas, pero sobre todo la importancia del trabajo bien hecho.

A Ana Briceño que ha sido la que ha realizado todo el trabajo de extracción, preparación y conservación de las muestras durante casi todo el tiempo que ha durado el proyecto. Por hacerlo a cambio de nada. Por hacerlo siempre con una sonrisa. Por siempre haber estado dispuesta a ayudarme. Sin ti esto no habría salido a delante.

Al Dr. Goicolea por la confianza que ha depositado siempre en mí y por la ayuda que brindó cuando la necesité. Sin él nunca habría llegado a trabajar con el Dr. Tuñón.

Al resto de mis compañeros y amigos de Puerta de Hierro. Vosotros sois los que me habéis enseñado Cardiología. Desde el Jefe hasta el Residente más joven siempre fuimos una pequeña familia. Siempre me habéis ayudado mientras trabajé con vosotros y lo habéis seguido haciendo cuando me marché del hospital.

A mis padres y hermanos. Por todo. Por la educación, por los sacrificios, por vuestro apoyo, por creer siempre en mí, por siempre anteponer nuestros intereses a los vuestros y siempre estar dispuestos y disponibles para ayudarme. Pero sobre todo gracias



por vuestro amor incondicional. Habéis sido mi espejo en la vida. Las cosas buenas que he logrado en esta vida son también vuestras. Os quiero.

A mi hijo y mi hija. Sois la alegría de mi vida. Sois capaces con tan solo una sonrisa o una mirada de eliminar cualquier atisbo de preocupación. Sois la energía que mueve mi mundo y me empuja a intentar ser mejor persona cada día.

Por último, pero de manera más especial, a Ruth, mi mujer. Por ser la piedra angular de lo mejor que tengo en este mundo, mi familia. Por dar vida a nuestros hijos. Por todos los sacrificios que haces día a día como madre y esposa. Por tu valentía. Porque te has echado la familia a la espalda para que yo pudiera sentarme delante del ordenador. Por no parar ni un segundo ni aun estando embarazada. Por aguantar mi mal humor y mis salidas de tono. Por hacerlo sin pedir nada a cambio. Por darme un beso cuando lo he necesitado. Por tu amor. Sin ti esto quizá podría haber salido adelante, pero desde luego no tendría sentido. Te quiero.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>1 ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR</b>	<b>11</b>
1.1 Factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular	15
1.1.1 Factores de riesgo no modificables	15
1.1.2 Factores de riesgo modificables	16
<b>2 DESARROLLO DE LA ATEROSCLEROSIS</b>	<b>21</b>
2.1 Disfunción endotelial	21
2.2 Desarrollo de la placa de ateroma	22
2.3 Formación de la cápsula y calcificación	24
2.4 Placa complicada	26
<b>3 METABOLISMO MINERAL</b>	<b>28</b>
3.1 Hormona paratiroidea o parathormona	28
3.2 Vitamina D	30
3.2.1 Efectos de la vitamina D no relacionados con el metabolismo mineral	31
3.2.2 Efecto cardiovascular de la vitamina D	33
3.3 Factor de crecimiento de fibroblastos 23	35
3.3.1 Papel fisiopatológico de FGF23	38
3.4 Klotho	40
3.4.1 Funciones de Klotho	42
<b>RECAPITULACIÓN</b>	<b>46</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>48</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>49</b>

<b>MÉTODOS</b>	<b>50</b>
1 Declaración Ética	50
2 Población: Estudio BACS-BAMI	50
2.1 Inclusión y seguimiento de los pacientes	51
2.2 Exclusiones	52
3 Diseño del presente trabajo	53
3.1 Definición de eventos	53
4 Determinaciones analíticas	55
5 Análisis estadístico	56
<b>RESULTADOS</b>	<b>58</b>
1 Características basales de los pacientes	58
2 Prevalencia de las alteraciones de los niveles de los componentes del metabolismo mineral	59
3 Correlación entre los diferentes elementos del metabolismo mineral	60
4 Eventos clínicos	62
5 Valor pronóstico de los niveles de calcidiol, PTH, FGF23 y Klotho en todos los pacientes	64
6 Comparación de las características de los pacientes con y sin IC/muerte	68
7 Influencia de los niveles de Klotho en el riesgo atribuible de PTH, calcidiol y FGF23.	71
8 Valor pronóstico de las alteraciones del metabolismo mineral dependiendo de la función renal	73
9 Relación entre Klotho y la función renal	76
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>77</b>
1 Capacidad pronóstica de los elementos del metabolismo mineral	77

2	<i>Comparación de las características de los pacientes que presentaron eventos frente a los que permanecieron estables</i>	82
3	<i>Influencia de Klotho sobre la capacidad pronóstica del resto de elementos</i>	83
4	<i>Influencia de de la función renal sobre la capacidad pronóstica del resto de elementos</i>	85
5	<i>Correlación entre los niveles de los elementos del metabolismo mineral</i>	86
6	<i>Relación entre Klotho y función renal</i>	86
7	<i>Limitaciones</i>	87
<b>CONCLUSIONES</b>		<b>88</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		<b>90</b>

## Índice de Figuras

Figura 1: Causas no transmisibles de muerte en el mundo .....	11
Figura 2: Causas de mortalidad en Europa.....	12
Figura 3: Años vividos con discapacidad en los diferentes países de Europa.....	13
Figura 4: Tendencia de la tasa de mortalidad por cardiopatía isquémica en los países desarrollados .....	14
Figura 5: Ranking de los factores de riesgo relacionados con la mortalidad .....	17
Figura 6: Prevalencia del tabaquismo.....	18
Figura 7: Formación de la placa de ateroma.....	23
Figura 8: Participación celular y molecular en la placa de ateroma.....	24
Figura 9: Tipo de lesiones de aterosclerosis y la secuencia de desarrollo.....	25
Figura 10: Rotura de una placa de ateroma y remodelado constrictivo .....	27
Figura 11: Efectos fisiológicos y regulación de la PTH.....	30
Figura 12: Efectos de la vitamina D .....	32
Figura 13: Efectos de FGF23 .....	36
Figura 14: Efectos de los principales implicados en el metabolismo mineral.....	37
Figura 15: Evolución temporal de los niveles de los principales implicados en el metabolismo mineral en la insuficiencia renal .....	38

Figura 16: Relación fisiológica entre los principales implicados en el metabolismo mineral y su alteración en la insuficiencia renal.....	40
Figura 17: Efecto de Klotho a nivel renal.....	43
Figura 18: Diagrama de flujo del estudio .....	53
Figura 19: Correlación entre los diferentes elementos del metabolismo mineral .....	61
Figura 20: Curva de Kaplan-Meier para el evento combinado IC y muerte según los cuartiles de FGF23 .....	68
Figura 21: Curvas de Kaplan-Meier para el evento combinado IC y muerte según los cuartiles de FGF23 en pacientes con y sin insuficiencia renal.....	76

## Índice de tablas

Tabla 1: Valores basales de los componentes del metabolismo mineral.....	59
Tabla 2: Porcentaje de pacientes con alguna alteración del nivel de los componentes del metabolismo mineral .....	59
Tabla 3: Diferencias de los niveles de los componentes del metabolismo mineral según la función renal .....	60
Tabla 4: Comparativa entre pacientes que presentaron el evento primario y los que permanecieron estables.....	63
Tabla 5: Cox univariado para los tres eventos.....	65
Tabla 6: Cox multivariado para el objetivo principal.....	67
Tabla 7: Cox multivariado para los eventos isquémicos. ....	67
Tabla 8: Cox multivariado para el combinado IC y muerte .....	67
Tabla 9: Diferencias entre las variables estudiadas entre los pacientes que presentaron el evento combinado de IC y muerte y los que no lo presentaron.....	70
Tabla 10: Cox univariado dividiendo a los pacientes según el valor de Klotho .....	72
Tabla 11: Cox multivariado dividiendo a los pacientes según el valor de Klotho. ....	73
Tabla 12: Cox univariado dividiendo a los pacientes según la función renal .....	74
Tabla 13: Cox multivariado diviendo a los pacientes según la función renal .....	75

## **LISTADO DE ABREVIATURAS**

AAS: Ácido acetil salicílico

ACVA/ACV: Accidente cerebrovascular agudo

AIT: accidente isquémico transitorio

Ca<sup>2+</sup>: Calcio

DM: diabetes mellitus

ECV: Enfermedad cardiovascular

FA: Fibrilación auricular

FE: Fracción de eyección

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo

FGF: factor de crecimiento fibroblástico

FGFR: receptor de FGF

FGR: filtrado glomerular renal

FRCV: factor de riesgo cardiovascular

HDL: lipoproteínas de alta densidad

hsPCR: Proteína C reactiva de alta sensibilidad

HTA: hipertensión arterial

HVI: Hipertrofia de ventrículo izquierdo

IAM: Infarto agudo de miocardio

IC: Insuficiencia cardiaca

IGF-1: insulin growing factor 1



IRC: insuficiencia renal crónica

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

NO: óxido nítrico

PTH: hormona paratiroidea

ROS: Especies reactivas de oxígeno (del inglés reactive oxygen species)

SCA: Síndrome coronario agudo

SCASEST: Síndrome coronario agudo sin elevación de ST

SCACEST: Síndrome coronario agudo con elevación de ST

SRAA: Sistema renina angiotensina aldosterona

TCE: Traumatismo craneoencefálico

TCFA: Fibroateroma de capsula fina (del inglés thin-cap fibroatheroma)

TCI: Tronco coronario izquierdo

TEP: Tromboembolismo pulmonar

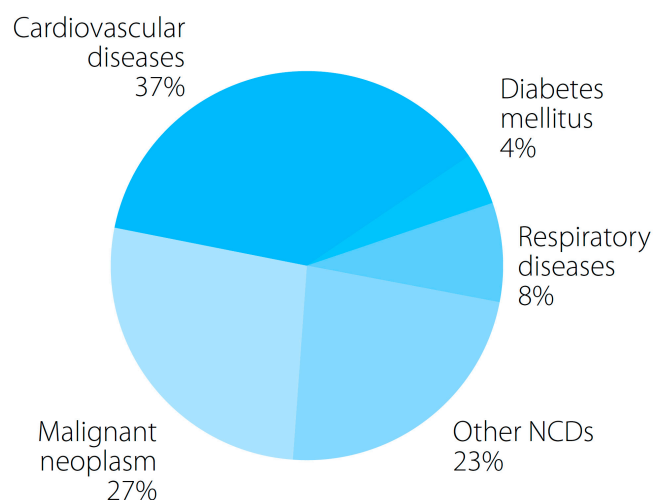
TG: Triglicéridos

# INTRODUCCIÓN

---

## 1 ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

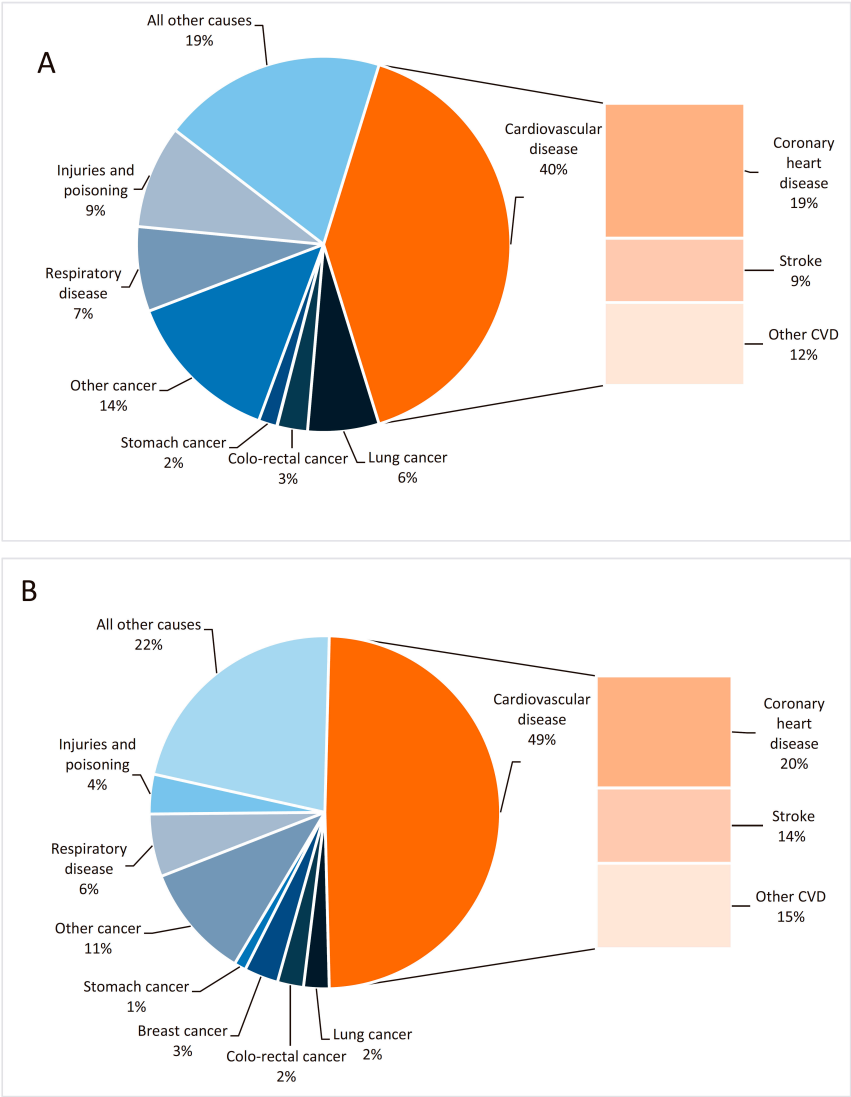
La enfermedad cardiovascular (ECV) es uno de los mayores problemas de salud, de tal manera que es la primera causa de muerte y se prevé que lo siga siendo<sup>1,2</sup>. Según la Organización Mundial de la Salud, se calcula que en 2012 murieron por esta causa 17,5 millones de personas, lo cual representa un 31% de todas las muertes registradas en el mundo. De estas muertes, 7,4 millones se debieron a la cardiopatía isquémica, y 6,7 millones, a los accidentes cerebrovasculares<sup>1</sup>. Concretamente en nuestro país, la enfermedad cardiovascular representa el 29,66% del total de fallecimientos, lo que la sitúa por encima del cáncer (27,86%) y de las enfermedades del sistema respiratorio (11,08%)<sup>3</sup>.



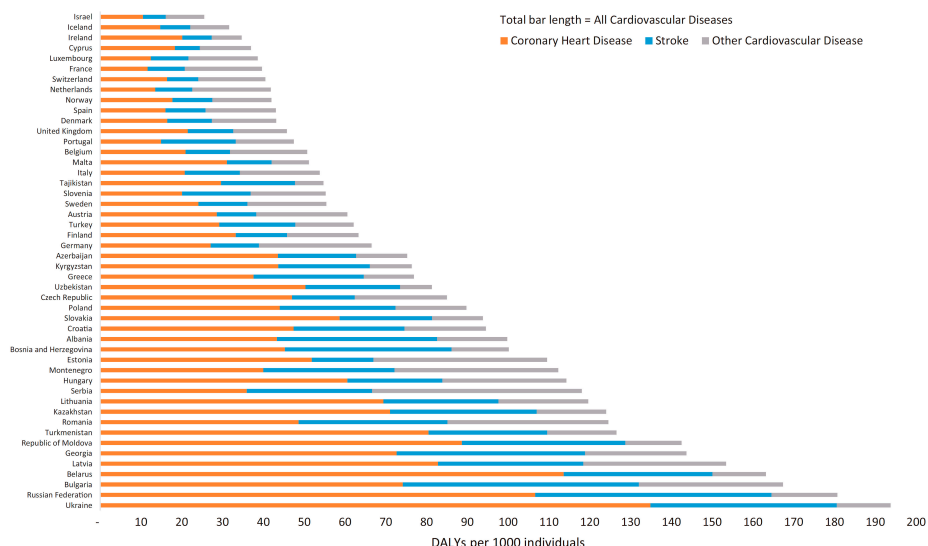
**Figura 1: Causas no transmisibles de muerte en el mundo**

En Europa también constituye la principal causa de muerte, produciendo más de 4 millones de muertes al año, lo que supone un 45% del total, siendo la causa principal la enfermedad coronaria, seguida por la enfermedad cerebrovascular. Existe una gran

variabilidad geográfica. En general, los países del Centro y Este de Europa tienen una mayor incidencia y mortalidad por ECV que los países del sur, norte y oeste<sup>4</sup>. En la mayoría de los países ha habido un incremento del número de ingresos por ECV. Sin embargo solo en aproximadamente la mitad lo ha hecho el número de ingresos por enfermedad coronaria<sup>5,6</sup>.



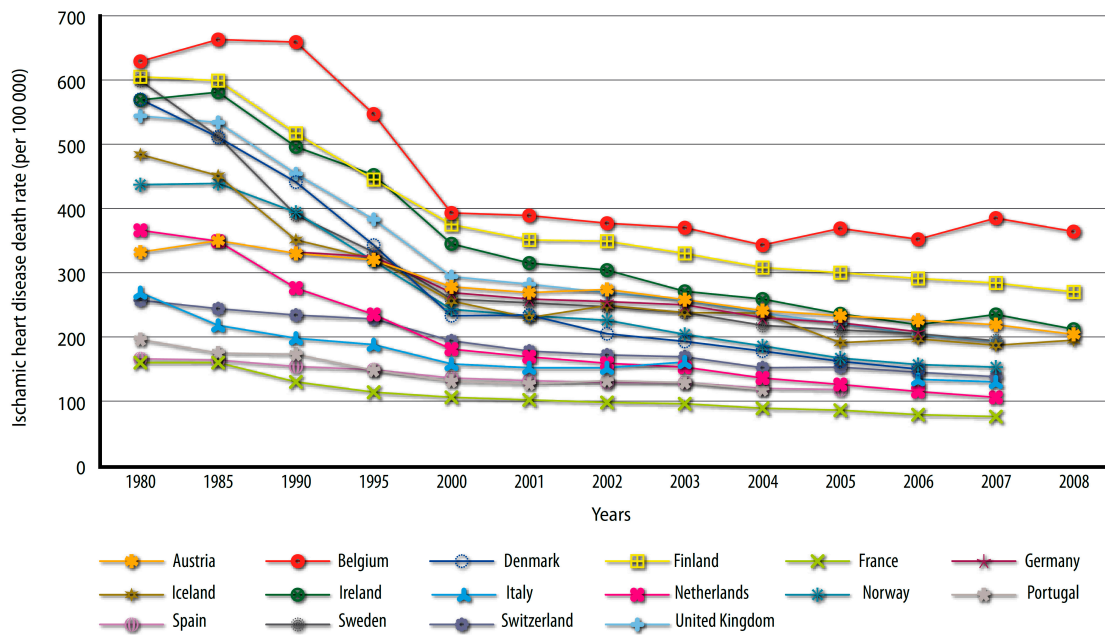
**Figura 2: Causas de mortalidad en Europa<sup>5</sup>: A hombres. B mujeres**



**Figura 3: Años vividos con discapacidad (DALYs) en los diferentes países de Europa<sup>5</sup>.**

Dentro de la enfermedad cardiovascular las más importantes son las patologías relacionadas con la aterosclerosis, tanto la coronaria como la enfermedad cerebrovascular<sup>7</sup>. Los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de la enfermedad son el tabaquismo, la hipertensión, diabetes, hipercolesterolemia, a los que se suman otros como la obesidad y el sedentarismo. El aumento progresivo de la edad de la población así como de la prevalencia de dichos factores de riesgo, con especial importancia de la obesidad y todas las complicaciones asociadas, ha provocado un aumento de la prevalencia de la ECV. Sin embargo, a este respecto hay grandes diferencias, ya que mientras que en países como España o EEUU la incidencia de las ECV está disminuyendo, en países como India y China o en Latinoamérica está aumentando<sup>8</sup>. A pesar de ello la mortalidad por causas cardiovasculares está descendiendo en los países desarrollados en las últimas décadas<sup>3,6</sup>. Este descenso se ha producido en parte por el mejor conocimiento de las enfermedades, la introducción progresiva de diferentes opciones terapéuticas en patologías como el síndrome coronario agudo o la insuficiencia cardíaca, y la mayor accesibilidad de la población general a ellas. Por otro lado, el esfuerzo que se está realizando en medidas de

prevención del desarrollo de la enfermedad así como al control de los factores de riesgo también está ayudando a la disminución de la morbimortalidad de las ECV<sup>9</sup>. A pesar de dicho esfuerzo, el aumento del sedentarismo, la obesidad y la diabetes mellitus contrarrestan en parte el beneficio, siendo responsables aproximadamente de un 18% de la mortalidad en cardiopatía isquémica<sup>8</sup>.



**Figura 4: Tendencia de la tasa de mortalidad por cardiopatía isquémica en los países desarrollados<sup>7</sup>.**

En los ensayos clínicos en los pacientes con síndrome coronario agudo con elevación de ST (SCACEST), la mortalidad ha disminuido considerablemente desde la introducción de las terapias de reperfusión urgente. Así, la mortalidad a 30 días pasó de un 13 a un 6-7% con tratamiento fibrinolítico y a un 3% con la angioplastia<sup>10-13</sup>. En los registros GRACE y EURO HEART SURVEY ACS, la mortalidad por SCACEST fue de aproximadamente 7% durante el ingreso y 9 % a los 30 días<sup>14,15</sup>, mientras que otro registro más reciente establece la mortalidad a 30 días en un 4.4%<sup>16</sup>.

Los datos obtenidos de los principales registros varían un poco dependiendo de la época en la que se obtuvieron los datos. Así en el registro REGICOR, con datos obtenidos entre los años 1990 y 1999, la letalidad media a los 28 días entre los 35 y 74 años de edad fue del 42.1%, en dos terceras partes la muerte se produjo sin llegar al hospital<sup>17</sup>. Cuando se comparan los resultados del registro MASCARA con datos recogidos entre 2004 y 2005, con los del registro DIOCLES, con datos recogidos en 2012, se observa una disminución de la mortalidad tanto hospitalaria (5.7% Vs 4.1%) como a los 6 meses<sup>18,19</sup>, y que está en consonancia con el aumento de la utilización de los tratamientos recomendados. A pesar de esta mejoría pronóstica, cabe destacar el gran porcentaje de pacientes que fallece antes de poder beneficiarse de la aplicación del tratamiento adecuado<sup>17,20</sup>, de ahí la importancia de poder identificar a los pacientes de mayor riesgo de presentar un evento para poder actuar de manera preventiva.

### ***1.1 Factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular***

Los factores de riesgo para el desarrollo de aterotrombosis son aquellas condiciones que promueven el desarrollo de esta patología, y cuyo control resulta en una menor incidencia de esta patología. De acuerdo con la World Heart Federation se dividen en factores de riesgo modificables y no modificables<sup>21</sup>.

#### **1.1.1 Factores de riesgo no modificables**

En este grupo se encuentran la edad, el sexo y la historia familiar. En la población anciana se deben de tener en cuenta los factores de riesgo específicos de la edad, como son la rigidez arterial, la fragilidad, perfil lipídico y la depresión<sup>22</sup>. Los vasos sanguíneos se

vuelven más gruesos y rígidos, y estos cambios pueden predisponer a hipertensión arterial (HTA) con el consecuente incremento de la postcarga y desarrollo de hipertrofia ventricular<sup>22</sup>. El perfil lipídico afecta de una manera diferente al riesgo cardiovascular a los ancianos, de tal manera que ni la elevación del colesterol total ni del colesterol LDL predicen la mortalidad cardiovascular, mientras que los niveles bajos de HDL sí<sup>22</sup>.

El riesgo cardiovascular de los varones es mayor que el de las mujeres premenopáusicas, mientras que el riesgo de éstas aumenta posteriormente de manera significativa e iguala al de los varones en su séptima década de vida<sup>21,22</sup>.

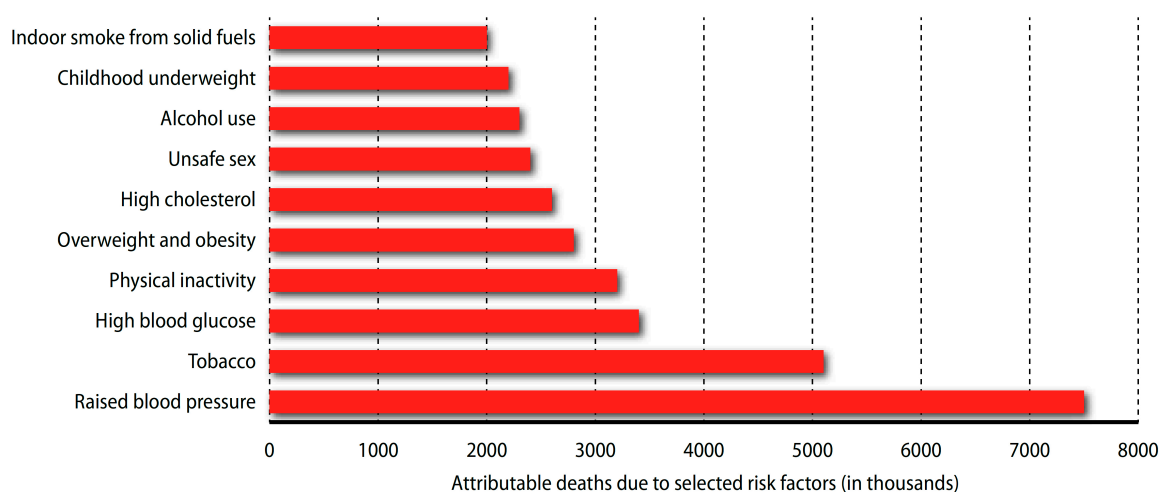
### 1.1.2 Factores de riesgo modificables

En 1957, el estudio Framingham identificó la hipercolesterolemia y la hipertensión arterial como factores de riesgo independientes para el desarrollo de enfermedad coronaria<sup>23</sup>. Más tarde, otros estudios añadirían el tabaquismo, la diabetes, la edad y los niveles bajos de HDL<sup>24-26</sup>. El estudio INTERHEART desarrollado en 52 países mostró como potenciales factores de riesgo asociados con el infarto de miocardio el tabaquismo, incremento de la relación ApoB/ApoA1, HTA, la obesidad abdominal, aspectos psicosociales y el consumo regular de alcohol entre otros<sup>27</sup>. Actualmente la World Heart Federation considera factores de riesgo modificables a la HTA, el tabaquismo, la diabetes, sedentarismo, mala alimentación, las alteraciones del perfil lipídico, el estrés, el alcohol y la pobreza<sup>21</sup>. La interurrencia de varios factores de riesgo parece tener un efecto multiplicativo más que aditivo en cuanto al riesgo cardiovascular se refiere<sup>28</sup>.

- Hipertensión arterial: es el factor de riesgo cardiovascular (FRCV) modificable más importante y está considerado como una de las mayores causas de

mortalidad prematura. Según la OMS, en 2014 la prevalencia de HTA en mayores de 18 años es del 22%, con aproximadamente 1000 millones de personas afectadas<sup>1</sup> y es responsable de la muerte de 8 millones de personas cada año<sup>29</sup>. Tiene un impacto negativo en la función del corazón y vasos sanguíneos, y causa el 50 % de los accidentes cerebrovasculares agudos (ACV) isquémicos y aumenta el riesgo de ACV hemorrágico<sup>30</sup>.

Se atribuye la HTA en un 50% a la dieta inadecuada (consumo excesivo de sal y descenso del consumo de potasio mediante la menor ingesta de frutas y verduras), un 30 % a la obesidad y un 20 % al sedentarismo, aunque hay otros factores relacionados con la HTA como el excesivo consumo de alcohol<sup>31</sup>.

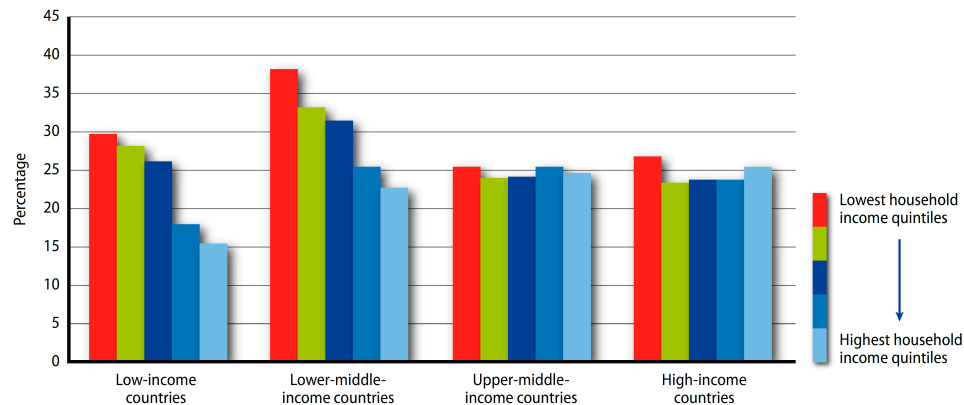


**Figura 5: Ranking de los factores de riesgo relacionados con la mortalidad<sup>7</sup>.**

- **Tabaquismo:** Es la segunda causa más importante en el desarrollo de ECV tras la HTA, de manera que se estima que es causa de un 10 % de la ECV. El tabaquismo, tanto activo como pasivo, es responsable de la muerte de 6 millones de personas cada año, y se espera que esto aumente en los próximos años. El tabaco daña los vasos sanguíneos, sube la tensión arterial temporalmente y la tendencia a la formación de coágulos, además disminuye la capacidad de transporte de oxígeno



y la tolerancia al ejercicio. Los fumadores pasivos también tienen un riesgo de padecer ACVs y enfermedad coronaria un 25-30% mayor<sup>7,32,33</sup>.



**Figura 6: Prevalencia del tabaquismo<sup>7</sup>**

- **Dislipemia:** Se considera que los niveles elevados de colesterol son responsables de aproximadamente un tercio de los casos de cardiopatía isquémica. En 2011, un 25 % de los adultos en los países de bajos ingresos y más de un 50 % en los países de ingresos altos tenían niveles elevados de colesterol<sup>7</sup>.
- **Diabetes mellitus (DM):** la DM no controlada se asocia con múltiples complicaciones, incluyendo retinopatía, neuropatía y nefropatía entre otras. Además lleva al daño de múltiples sistemas en el cuerpo y pueden producir problemas de salud potencialmente mortales<sup>34,35</sup>. En el mundo, la prevalencia de DM prácticamente se ha duplicado en los últimos 30 años, siendo en 2014 de un 8.5%<sup>36</sup>. En Estados Unidos uno de cada diez adultos padecen DM<sup>6</sup>. Se considera que en 2012 causó 1.5 millones de muertes directas, mientras que contribuyó a otras 2.2 millones a través del incremento de riesgo cardiovascular y otras enfermedades<sup>36</sup>.

- Sedentarismo: Una actividad física inadecuada se puede definir como menos de 150 minutos de ejercicio moderado o 60 de ejercicio intenso a la semana<sup>7,37</sup>. Los beneficios del ejercicio físico incluyen la disminución de la mortalidad por ECV, e incremento de la capacidad funcional y calidad de vida. Por el contrario, una actividad física inadecuada aumenta el riesgo de mortalidad en un 20-30%<sup>38,39</sup>. Se considera que en 2010 el 23% de los mayores de 18 años no realizaban una actividad física adecuada, y de una manera más marcada en las mujeres<sup>39</sup>. El descenso de la actividad física ha derivado en un aumento de la incidencia de ECV, diabetes mellitus, niveles anormales de lípidos y obesidad<sup>40</sup>.
- Obesidad: la obesidad es una enfermedad crónica que afecta por igual a niños, adolescentes y adultos. El exceso de peso es una de las causas principales de muerte y discapacidad en Estados Unidos y en el mundo, y se espera que siga aumentando en los próximos años<sup>6</sup>. La obesidad se asocia con el desarrollo de HTA, diabetes, enfermedad coronaria, ACV y osteoartritis, entre otros. La prevalencia mundial de obesidad prácticamente se ha doblado desde 1980, estimando que actualmente más de 1900 millones de adultos están por encima de su peso ideal, y 600 millones son obesos<sup>41</sup>. Igualmente, se estima que en 2013, 42 millones de niños menores de 5 años estaban por encima del peso recomendado<sup>1</sup>.
- Alimentación: El consumo bajo de frutas y verduras, y elevado de grasas y sal puede aumentar el riesgo cardiovascular y la ganancia de peso. Se estima que el bajo consumo de frutas y verduras es responsable del 20 % de ECV y del 2.8% de las muertes en el mundo<sup>42,43</sup>.

El consumo excesivo de sal es un factor determinante para la HTA y el riesgo cardiovascular. Igualmente, las grasas se han asociado con patología cardíaca y ACV. Así, el consumo excesivo de grasas saturadas aumenta el riesgo de

desarrollar ECV, mientras que las grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas se consideran cardioprotectoras<sup>44</sup>.

Además de la mortalidad que acarrea el IAM, existe un riesgo residual de la aparición de nuevos eventos cardiovasculares. En un reciente estudio sueco que incluyó más de 90.000 pacientes con IAM entre los años 2006 y 2011, en el que el empleo de la revascularización rondó el 50%, se apreció una incidencia de IAM, ictus o muerte cardiovascular de 18.3% al año y un 20% adicional entre el primer y tercer año después del alta<sup>45</sup>. En otro estudio en Reino Unido de más de 15.000 pacientes con SCA entre 2005 y 2010, las incidencias acumuladas fueron 7.3%, 12.3% y 17.7% a 1, 2 y 3 años respectivamente<sup>46</sup>. En un estudio posterior realizado en España, la incidencia fue de 19.5% durante un seguimiento de 4.8 años, apareciendo el 34.8% de estos eventos durante el primer año<sup>47</sup>. Todos estos estudios muestran que, a pesar de la mejora del conocimiento de la enfermedad cardiovascular, así como de los avances en su tratamiento, el riesgo de presentar eventos posteriores sigue siendo elevado. El incompleto control de los FRCV puede contribuir a este hecho<sup>6,48-50</sup>. Sin embargo, el estudio INTERHEART mostró que los FRCV en él descritos no explicaban por completo todos los casos de enfermedad cardiovascular<sup>27</sup>. En vista de estos resultados, parece fundamental identificar los pacientes de mayor riesgo encontrando nuevos factores que estén implicados con este riesgo residual de manera que se puedan abrir nuevas vías de tratamiento en el futuro y centrar los esfuerzos terapéuticos en los presenten mayor riesgo cardiovascular.

## 2 DESARROLLO DE LA ATEROSCLEROSIS

### 2.1 *Disfunción endotelial*

La disfunción endotelial constituye la primera fase de la aterosclerosis, y está asociada con muchos de los FRCV clásicos incluyendo hipercolesterolemia, diabetes, HTA y tabaco. En particular, está inducida por LDL oxidadas. La disfunción de la vasodilatación endotelial es producida principalmente por la pérdida del óxido nítrico endotelial por alteración del balance entre la formación y el consumo<sup>51,52</sup>. El resultado principal es la incapacidad de la arteria para dilatarse adecuadamente, pero además se producen unas condiciones favorables para la activación de plaquetas y leucocitos, produciendo adhesión plaquetaria, activación de citoquinas que aumentan la permeabilidad del vaso a las lipoproteínas oxidadas y mediadores de la inflamación. Esto finalmente resulta en daño de la pared arterial, proliferación de las células del músculo liso y formación de la placa de ateroma.

El aumento del estrés oxidativo juega un papel importante en la Disfunción Endotelial. Se caracteriza por un aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) que se produce por disminución de la actividad de la óxido nítrico sintasa, responsable de la producción de óxido nítrico, o disminución de la superóxido dismutasa, un enzima clave en el aclaramiento de ROS<sup>53</sup>. El óxido nítrico se degrada reaccionando con el superóxido y la oxihemoglobina<sup>54</sup>. Por el aumento del estrés oxidativo que tiene lugar en la aterosclerosis las oxidasas endoteliales producen superóxido<sup>55-57</sup>, y la reacción del superóxido con el óxido nítrico disminuye su disponibilidad, pero además produce peroxinitrito, que en cantidades elevadas actúa como un potente oxidante<sup>58-61</sup>, tiene capacidad para fragmentar proteínas y causar toxicidad por radicales hidroxilo y ácido peroxinitroso<sup>62-64</sup>.

La angiotensina II estimula la acción de NADPH y NADH oxidasas, lo que aumenta la producción del anión superóxido<sup>65,66</sup>, y contribuye a la reducción de los niveles de óxido nítrico incrementando su destrucción y reduciendo su producción.

## **2.2 Desarrollo de la placa de ateroma**

La infiltración y retención de LDL en la íntima inicia la respuesta inflamatoria en la pared arterial<sup>67,68</sup>. Habitualmente las lipoproteínas que atraviesan el endotelio son transportadas nuevamente a la sangre por un sistema del que forma parte las HDL<sup>69</sup>. El aumento de la permeabilidad que se produce cuando hay disfunción endotelial, unido al descenso de HDL presente en pacientes con ciertos factores de riesgo, hace que se exceda la capacidad de aclaramiento de LDL con el consiguiente acúmulo en la pared vascular<sup>70-73</sup>. Estas LDL, en el espacio subendotelial, interactúan con los proteoglicanos cargados positivamente, lo que favorece su retención otorgando un mayor tiempo para que las ROS modifiquen los fosfolípidos de superficie y desesterifiquen el colesterol<sup>74,75</sup>. Esta modificación de LDL lleva a la liberación de los fosfolípidos que mediante la activación del NF-kB, sobre todo en zonas de estrés hemodinámico, produce la activación de las células endoteliales<sup>68,76-82</sup>. Las células endoteliales activadas expresan múltiples tipos de moléculas de adhesión, que hacen que las células sanguíneas rueden por la superficie vascular para adherirse en el lugar de la activación<sup>83-87</sup>. Una vez que las células se han adherido, las quimioquinas, como MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) y MCSF (factor estimulante de colonias de macrófagos) producidas en la íntima subyacente producen un estímulo que las hace migrar a través de las uniones endoteliales hacia el espacio subendotelial<sup>88-90</sup>.

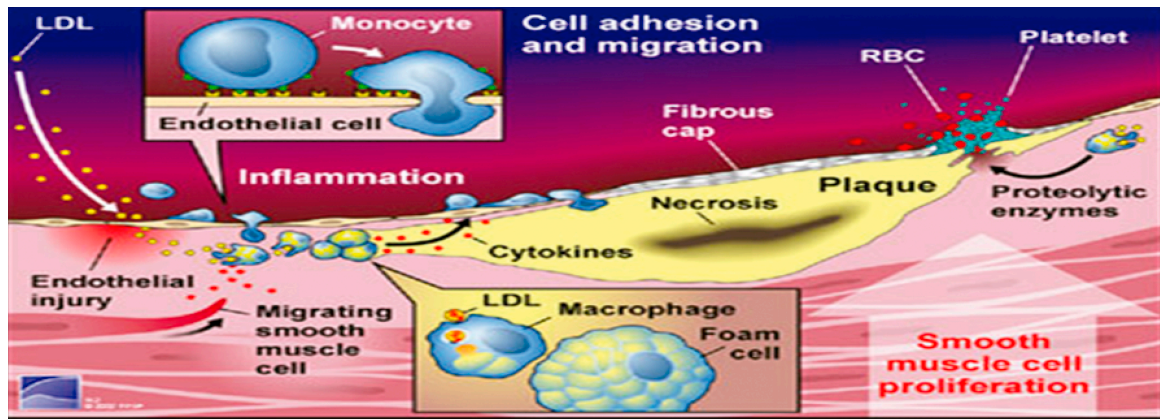


Figura 7: Representación esquemática de la formación de la placa de ateroma<sup>91</sup>.

Este es un paso determinante en la formación de aterosclerosis<sup>92</sup> y está asociado con la regulación positiva de los receptores de reconocimiento de patrones, incluyendo los scavenger receptors y los toll-like receptors<sup>93,94</sup>.

Los scavenger receptors de los macrófagos participan en la captación de LDL oxidadas por estas células<sup>95-97</sup>. Las células del músculo liso también captan lípidos y acumulan gotitas de ésteres de colesterol, posiblemente mediado por mecanismos similares<sup>98</sup>. Si las partículas de LDL oxidadas no pueden ser eliminadas de la célula en suficiente medida, se acumulan como pequeñas gotas en el citosol y finalmente la célula se transforma en una célula espumosa. Estas células espumosas pueden ser reversibles si el estímulo que causó su formación desaparece.

Finalmente, los macrófagos y las células del músculo liso cargadas de grasa mueren, liberando su contenido graso, que dará lugar a pequeños acúmulos de lípidos acelulares en la íntima conocidos en inglés como “lipid pools”, enzimas y otras sustancias, como radicales libres y aniones superóxido, que provocaran un mayor daño e incluso destrucción del endotelio<sup>78,99</sup>. Es decir, pasamos de la fase de disfunción endotelial, en la

que no hay daño anatómico, al daño endotelial, en el que esta estructura está alterada o, incluso, ausente.

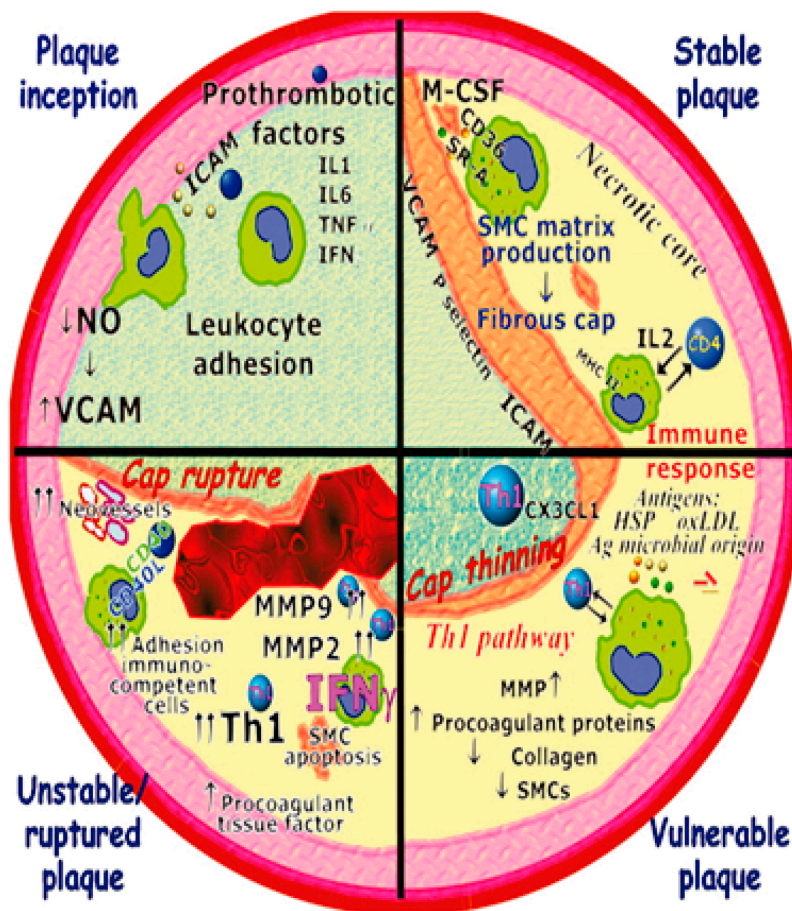
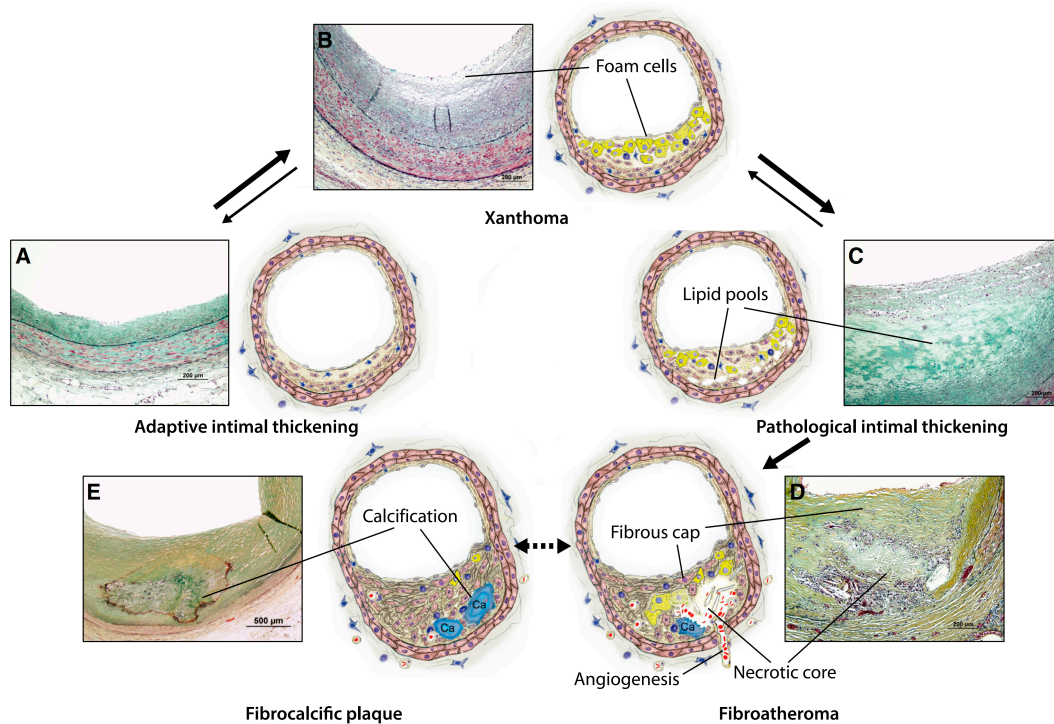


Figura 8: Representación esquemática de la participación celular y molecular en los diferentes estados de la placa de ateroma<sup>91</sup>.

### 2.3 Formación de la cápsula y calcificación

Con la alteración de la estructura endotelial las plaquetas entran en contacto con el tejido subendotelial estimulando su adhesión y liberación de citoquinas proinflamatorias y factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). La cascada de mediadores promueve un cambio de fenotipo en las células del musculo liso vascular, de un fenotipo “contráctil” a un estado activo “sintético” con menor presencia de fibras contráctiles y mayor de retículo endoplásmico<sup>100–102</sup>. En el estado sintético pueden

proliferar y migrar desde la media a la íntima, donde producen una cantidad excesiva de matriz extracelular y son responsables de la producción mayoritaria del colágeno, la elastina y los proteoglicanos de la matriz. Este proceso produce una alteración irreversible de la estructura intimal y deja detrás un núcleo lipídico y de restos celulares desprovistos de matriz, recibiendo entonces el nombre de fibroateroma <sup>103,104</sup>.



**Figura 9: Tipo de lesiones de aterosclerosis y la secuencia de desarrollo propuesta <sup>105</sup>.**

Las células apoptóticas, la matriz extracelular y el núcleo lipídico sirven de nidos para el acúmulo de gránulos microscópicos de calcio, que pueden expandirse formando masas mayores de depósitos de calcio. El núcleo lipídico puede calcificarse completamente y con el tiempo la mayor parte del volumen de la placa puede estar calcificada y, en raras ocasiones, se puede llegar a apreciar metaplasia ósea <sup>106-108</sup>.

Además, hay formación de neovasos desde el vasa vasorum de la adventicia hasta la base de las lesiones ateroscleróticas, en respuesta a factores como vascular endothelial



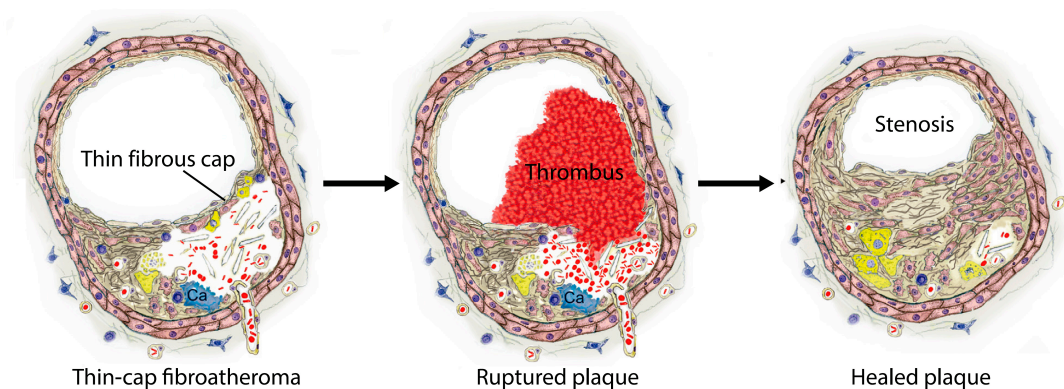
growth factor (VEGF), constituyendo una vía de entrada alternativa para los monocitos y las células del sistema inmunitario<sup>109,110</sup>. Estos neovasos son frágiles y permeables, produciendo la extravasación de proteínas plasmáticas y eritrocitos<sup>111</sup>, pudiendo expandir el núcleo necrótico y favorecer la inflamación<sup>112-114</sup>.

## **2.4 Placa complicada**

La aterosclerosis por si sola puede obstruir el flujo coronario y producir angina, pero raramente es mortal en ausencia de escaras miocárdicas. El síndrome coronario agudo (SCA) prácticamente siempre está producido por trombosis de la placa<sup>115</sup>. En el SCA con elevación de ST, el trombo es oclusivo, mientras que en el SCA sin elevación de ST normalmente es incompleto, dinámico o incluso está ausente. El mecanismo más frecuente de trombosis es la rotura de placa<sup>115,116</sup> y es la causa más frecuente en los IAM mortales y no mortales<sup>117,118</sup>. Cuando no hay evidencia de rotura de placa se denomina erosión de placa por la ausencia de endotelio que típicamente se aprecia debajo del trombo<sup>119</sup>.

Hay múltiples factores relacionados con la rotura de placa y descripción detallada no es el objetivo de esta introducción. En general, la rotura de la placa se produce en donde la capsula es más fina y está más infiltrada por macrófagos<sup>116,120,121</sup>. Estas células degradan la matriz rica en colágeno de la cápsula al secretar enzimas proteolíticas como activadores de plasminógeno, catepsinas y metaloproteinasas (MMP), que degradan la matriz extracelular<sup>122</sup>. Cada vez hay mayor evidencia acerca de la relación entre las MMP, la inestabilidad de la placa y los eventos cardiovasculares<sup>123-127</sup>. Con la rotura de la placa, el colágeno de la cápsula y el núcleo lipídico, que es altamente trombogénico, se exponen a los factores trombóticos de la sangre<sup>128,129</sup>. La erosión de placa probablemente constituye

un estímulo trombogénico menor y la contribución de los otros factores de la triada son de mayor importancia en este contexto. La magnitud de la respuesta trombogénica en placas rotas o erosionadas es extremadamente variable dependiendo de la triada de Virchow: la trombogenicidad del material expuesto de la placa, las alteraciones del flujo sanguíneo local y la trombogenicidad sistémica. Así, como muestran estudios de autopsias solo una minoría de las roturas de placa producen sintomatología clínica, mientras que el resto cura de manera silente solamente con trombosis mural<sup>130-132</sup>. En todo caso, estas trombosis silentes constituyen un estímulo para la progresión de la placa aunque no llegue a ocasionar estenosis severas<sup>102,133</sup>. Este mecanismo podría explicar por qué frecuentemente se desarrollan estenosis coronarias importantes donde previamente eran solo insignificantes<sup>131,134</sup>.



**Figura 10: Rotura de una placa de ateroma de cápsula fina con trombosis no fatal y la subsiguiente cura con la formación de tejido fibroso y remodelado constrictivo<sup>105</sup>.**

### 3 METABOLISMO MINERAL

Aunque más conocido en el área de la Nefrología, el llamado metabolismo mineral tiene también gran importancia en el funcionamiento del aparato cardiovascular.

El fosfato participa en casi todos los procesos metabólicos. Es fundamental para la integridad de los huesos (donde reside el 85% del fósforo corporal) y dientes y forma parte del sistema tampón del pH de la sangre. A nivel celular, el fosfato es importante tanto a nivel de la membrana plasmática como en la formación de moléculas de importancia como el ATP, el AMPc o los ácidos nucleicos. Sin embargo, se ha visto también que el aumento de fosfato en sangre favorece el daño cardiovascular<sup>135</sup>.

Por tanto, la regulación de los niveles de fosfato en sangre es muy importante para evitar el daño cardiovascular. En la homeostasis del fosfato, y también del calcio, son fundamentales la hormona paratiroidea (PTH), la vitamina D y el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23). Aunque también la calcitonina podría jugar un papel, su participación resulta más controvertida.

#### **3.1 Hormona paratiroidea o parathormona**

La PTH es un polipéptido de 84 aminoácidos que se produce en la glándula paratiroides en forma de precursor, que posteriormente es metabolizado en la propia glándula, y también en localizaciones extraglandulares, produciendo su forma activa. Su principal función es el mantenimiento de los niveles sanguíneos de calcio.

A nivel óseo, la PTH actúa activando el RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) en los osteoblastos, los cuales a su vez, por efecto indirecto, ponen

en marcha una cascada de señales para el reclutamiento y activación de los osteoclastos. Por lo tanto, aunque la PTH también estimula la formación de hueso, de hecho se ha visto que la administración intermitente de PTH es capaz de aumentar la formación ósea<sup>136</sup>, su efecto neto es estimular la absorción de hueso, lo que conlleva un aumento de los niveles plasmáticos de calcio iónico y fosfato en sangre.

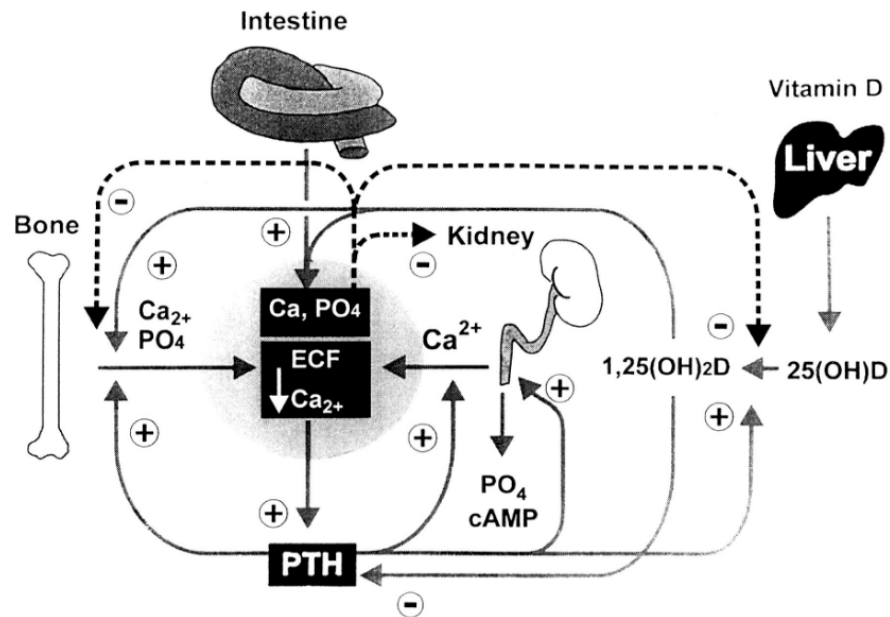
Sobre el riñón produce una disminución de la reabsorción de iones fosfato a nivel del túbulo proximal (contrarrestando así los efectos a nivel óseo e intestinal para evitar la hiperfosfatemia), favorece la eliminación de bicarbonato y produce un aumento de la absorción de calcio en el asa de Henle y túbulos distales a través de la regulación de los canales TRPV5<sup>137</sup>. Además estimula la conversión de 25(OH)D<sub>3</sub> en 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>.

La acción de la PTH sobre el intestino no es directa, sino que está mediada por la vitamina D. La PTH incrementa la síntesis de 1,25-dihidroxicolecalciferol en el riñón potenciando la absorción de calcio a nivel intestinal<sup>138</sup>.

A nivel cardiovascular se ha visto que la PTH es capaz de movilizar células madre de la médula ósea y que puede mejorar la recuperación postinfarto en condiciones experimentales<sup>139</sup>. Sin embargo, existen receptores de la PTH en los miocitos cardiacos cuya activación puede interferir con la normal contractilidad y producir efectos tróficos que llevan a un aumento de la masa celular induciendo el desarrollo de HVI<sup>140-143</sup>.

El principal estímulo regulador de la secreción de PTH es el nivel de Ca<sup>2+</sup>. De este modo, las concentraciones bajas aumentan la secreción de PTH, especialmente cuando este descenso es brusco, mientras que los niveles elevados la disminuyen, aunque este último efecto no es tan marcado como el primero.

El efecto del magnesio sobre la secreción de PTH es complejo. La hipermagnesemia aguda inhibe la PTH, mientras que la hipomagnesemia aguda estimula su secreción. Sin embargo, paradójicamente, la hipomagnesemia crónica disminuye la secreción de PTH. El 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> es un potente inhibidor de la transcripción génica de la PTH.



**Figura 11: Efectos fisiológicos y regulación de la PTH.** Las líneas sólidas indican el efecto de PTH y la vitamina D. Las líneas punteadas indican el efecto de los iones de calcio y fósforo. ECF: líquido extracelular.

### 3.2 Vitamina D

La vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) es una hormona esteroidea que puede ser ingerida de varias fuentes, incluida la leche, huevos y el pescado (como el atún y el salmón). Además, el 7-dihidrocolesterol, es un precursor que es convertido a colecalfiferol en la piel bajo la exposición a los rayos ultravioletas, y que es transportado al hígado por la proteína transportadora de vitamina D, donde es hidrolizada a 25 hidroxivitamina D. Es nuevamente transportada por la misma proteína hasta el riñón donde vuelve a ser hidroxilada por la 1- $\alpha$ -hidroxilasa, dando lugar a la forma activa, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, aunque este proceso no es

exclusivo de los riñones, ya que la enzima se encuentra también en otros tejidos como la placenta, los monocitos y los macrófagos.

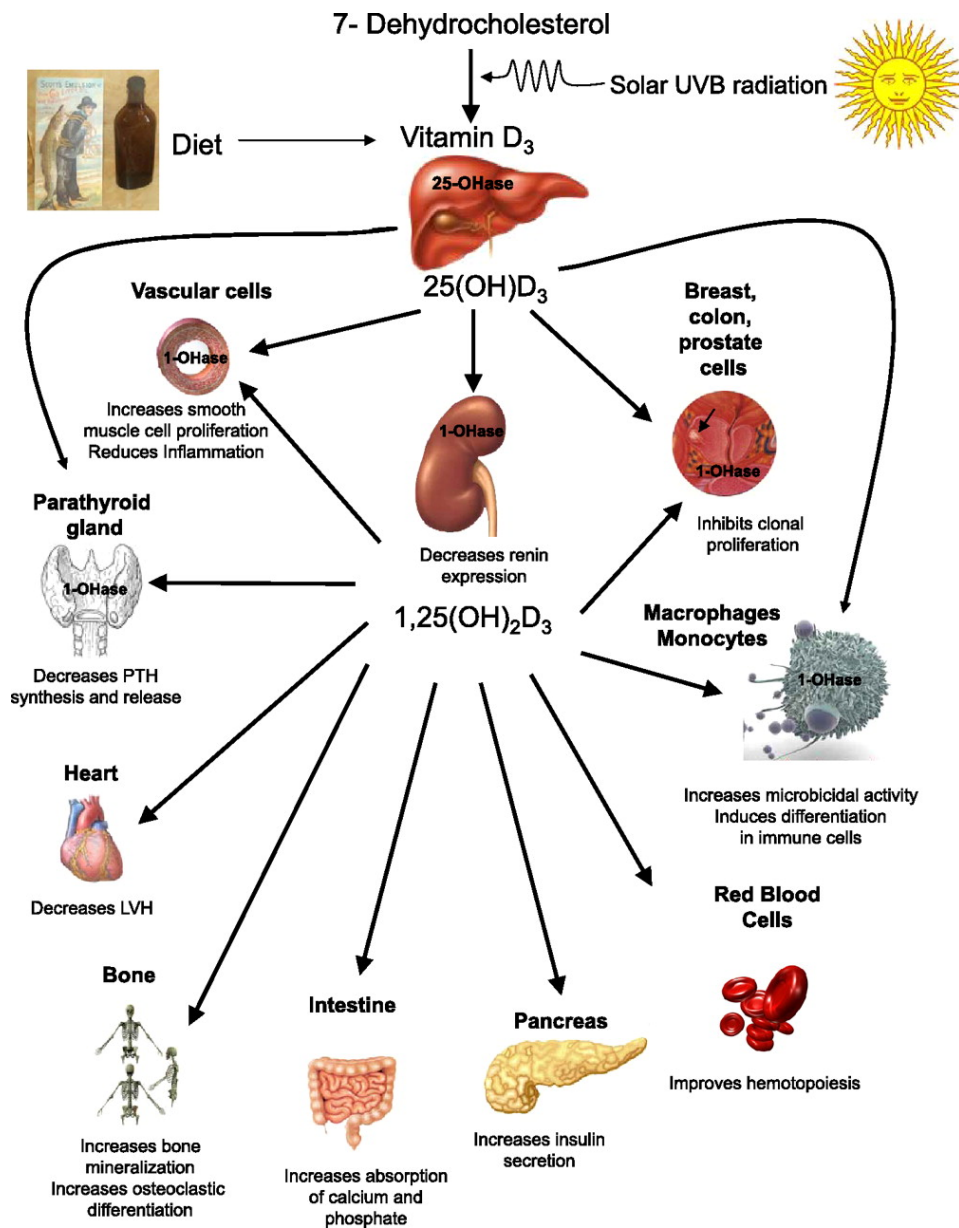
Su principal función es la regulación de la homeostasis cálcica. La vitamina D favorece la absorción de calcio y fósforo en el intestino, estimulando la síntesis de la proteína transportadora de calcio. A nivel óseo, activa los osteoblastos que a su vez estimulan a los osteoclastos, facilitando la resorción ósea de manera codependiente y sinérgica con la PTH<sup>138</sup>. En el túbulo distal del riñón, nuevamente junto con la PTH, la vitamina D facilita la reabsorción de calcio. Todos estos mecanismos llevan al aumento de los niveles de calcio plasmático.

Tanto la PTH como la hipofosfatemia estimulan la síntesis renal de vitamina D. Con la PTH forma otro clásico loop hormonal de contraregulación. Por otro lado, como veremos más adelante, el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23) es un potente regulador negativo de la vitamina D.

### 3.2.1 Efectos de la vitamina D no relacionados con el metabolismo mineral

La evidencia de receptores de la vitamina D en múltiples tejidos ha facilitado el conocimiento de acciones de la vitamina D independientes del metabolismo mineral<sup>144</sup>.

La función fagocítica de los macrófagos está alterada en los pacientes con raquitismo, aunque esta puede restaurarse con la reposición de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ <sup>145,146</sup>. Se ha evidenciado descenso de los linfocitos T en ratas con ausencia de alfa hidroxilasa. La acción de la vitamina D sobre los macrófagos aumenta la capacidad de estos para acabar con la M. Tuberculosis<sup>144</sup>.



**Figura 12: Efectos de la vitamina D**

Otro de los efectos de la vitamina D es la supresión del sistema inmunológico adaptativo y de la generación de tolerancia y anergia. Hay evidencia de que niveles altos de vitamina D disminuyen el riesgo de esclerosis múltiple, así como de que los pacientes diagnosticados de lupus eritematoso sistémico tienen niveles más bajos de vitamina D que los controles, y que los pacientes con déficits severos tenían mayor actividad de la enfermedad<sup>144</sup>.

Los efectos antineoplásicos de la vitamina D incluyen la regulación de la apoptosis y angiogénesis. Hay asociación inversa entre la exposición solar, la ingesta de productos lácteos y vitamina D en la dieta con el riesgo de varios cánceres<sup>147</sup>.

### 3.2.2 Efecto cardiovascular de la vitamina D

Se ha visto una relación inversa entre los niveles de vitamina D y la extensión de la calcificación vascular<sup>148</sup>, así como con la severidad de enfermedad coronaria, disfunción endotelial, infarto de miocardio y la mortalidad cardiovascular<sup>149–153</sup>. La disfunción endotelial se ha relacionado con descenso de la biodisponibilidad de óxido nítrico<sup>151</sup>. Algunos estudios muestran que la vitamina D protege las paredes vasculares del daño causado por la inflamación, aumentando la producción de citoquinas antiinflamatorias, como IL-10, y disminuyendo las proinflamatorias, como TNF- $\alpha$  e IL-6<sup>154</sup>. Es interesante que las alteraciones del metabolismo mineral no solo afectan a pacientes con insuficiencia renal, sino que nuestro grupo ha visto que hasta un 50 % de los pacientes con enfermedad coronaria presentaban deficiencia de vitamina D, a pesar de que solo un 17% presentaba un filtrado glomerular  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup><sup>155,156</sup>. Además, en el mismo estudio se vio que los niveles de vitamina D bajos se asociaron con un mayor número de eventos durante el seguimiento (eventos coronarios, cerebrovasculares, IC y muerte), y, lo que resulta muy interesante, que esta relación solamente se daba en los pacientes que tenían niveles de FGF23 por encima de la mediana. Otro estudio previo con más de 10.000 pacientes y 29 años de seguimiento, mostró asociación entre niveles menores de vitamina D mayor riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica, infarto de miocardio y muerte, a pesar de que el filtrado glomerular medio era de 67 ml/min/1,73m<sup>2</sup> y que no existían diferencias significativas entre los diversos grupos<sup>157</sup>.



Así mismo se ha visto asociación del déficit de vitamina D con HTA, debido fundamentalmente a la mayor activación del sistema renina angiotensina<sup>158,159</sup>, y en algunos estudios se ha observado beneficio del tratamiento con colecalciferol en cuanto al descenso de la tensión arterial<sup>160,161</sup>. Esta activación del sistema renina angiotensina se ha implicado también en el desarrollo de la hipertrofia y disfunción ventricular asociada con el déficit de vitamina D<sup>162</sup>. A este respecto, hay un estudio pequeño en el que el tratamiento con suplementos de vitamina D se asoció con una ligera mejoría de la fracción de eyección<sup>163</sup>.

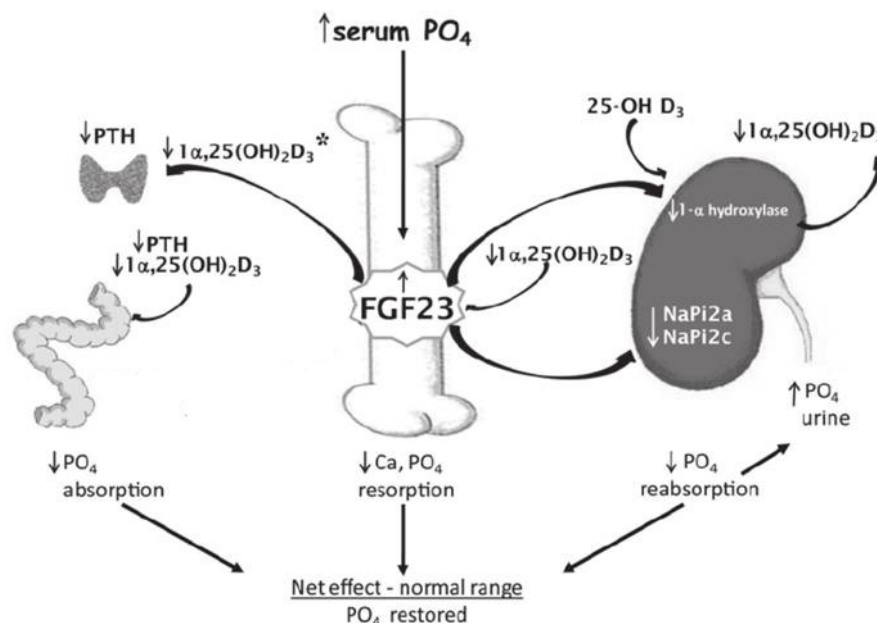
Ante la evidencia previa, se pensó en un posible beneficio de la activación de los receptores de vitamina D en cuanto a la disminución del desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Existen diferentes activadores de los receptores de vitamina D, siendo el paricalcitol el que mejor perfil de protección ha mostrado<sup>164</sup>. A pesar de que el tratamiento con paricalcitol se ha asociado con disminución de la calcificación vascular en animales con insuficiencia renal, de la progresión de la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) y el desarrollo de insuficiencia cardíaca en ratas<sup>165-169</sup>, en el ensayo PRIMO (Paricalcitol Capsule Benefits in Renal Failure-Induced Cardiac Morbidity) no demostró reducir la incidencia de HVI en pacientes con HTA e insuficiencia renal<sup>170</sup>. Las razones que postulan son la inadecuada población y duración del estudio, así como que no se tuvo en cuenta la posible relación con los niveles de otros factores importantes del sistema del metabolismo mineral, como FGF23 y Klotho<sup>171</sup>.

### **3.3 Factor de crecimiento de fibroblastos 23**

El FGF23 se produce fundamentalmente en los osteoblastos y osteocitos. El gen de FGF23 está localizado en el cromosoma 12 y codifica una glucoproteína de 32 kDa. La proteína FGF23 circula en plasma en dos formas distintas: una forma madura larga y una forma más corta, aunque sólo la forma larga del FGF23 es activa, pues el dominio COOH-terminal es esencial para la unión con su cofactor y la activación de la cascada de señalización intracelular<sup>172,173</sup>.

Tiene dos funciones principales: La primera es la emisión de una señal fosfatúrica desde el hueso, en respuesta a las alteraciones del recambio o mineralización ósea, para coordinarse con el mecanismo de absorción/eliminación renal de fósforo. Esta acción fosfatúrica del FGF23 es independiente de la vitamina D<sup>174</sup> y se realiza fundamentalmente a través de la activación de los receptores FGFR1. La segunda es evitar los efectos indeseables del exceso de exposición a la vitamina D mediante la supresión de su formación y aumento del catabolismo a nivel túbulo proximal renal<sup>174</sup> y se lleva a cabo a través de los receptores FGFR3 y FGFR4.

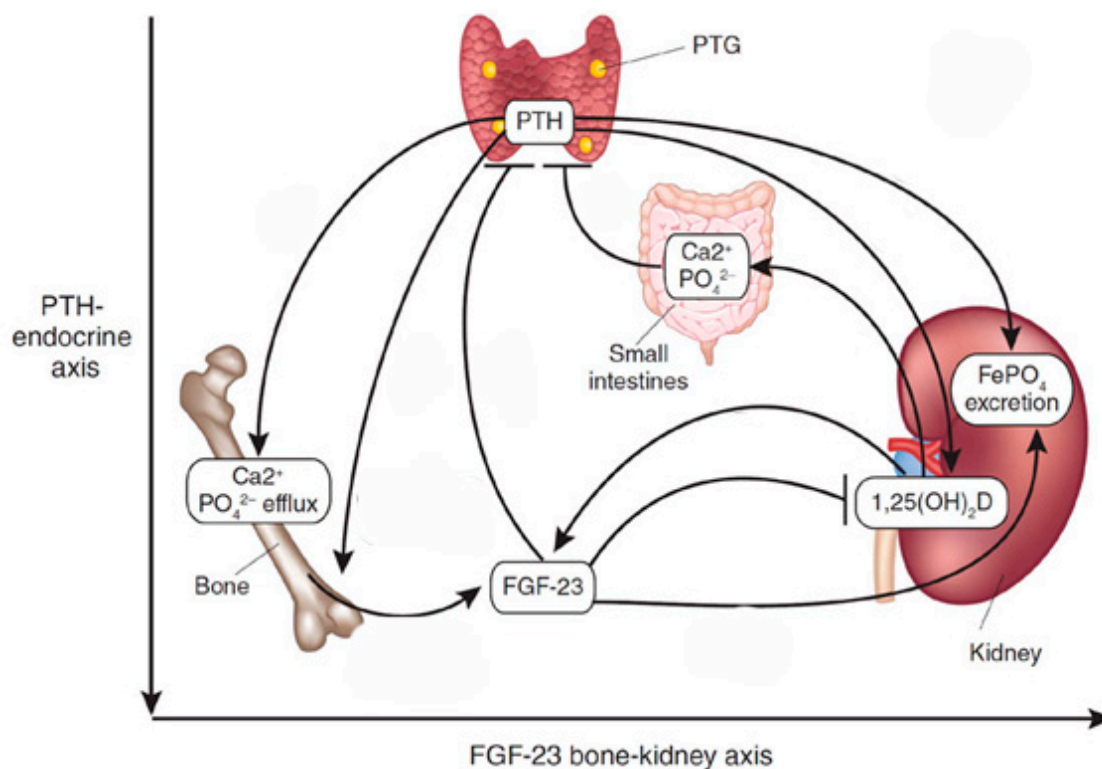
La primera de estas funciones de FGF23 identifica al hueso como un órgano endocrino que se comunica con otros tejidos involucrados en la homeostasis mineral. Además de estas acciones principales, tiene otras en diferentes órganos diana. Las acciones del FGF23 se realizan al unirse al receptor de membrana FGFR. Para que se exista alta afinidad en la unión de FGF23 con las células diana es necesaria la presencia de del cofactor  $\alpha$ Klotho. Mientras que la expresión de FGFR está muy extendida en diferentes tejidos, la del cofactor Klotho está mucho más restringida. De esta manera confiere a ciertos órganos la especificidad de acción endocrina de FGF23 que resulta en efectos fisiológicos específicos<sup>175</sup>.



**Figura 13: Efectos de FGF23**

La regulación de la secreción de FGF23 se produce principalmente por  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , que estimula su secreción, y ésta a su vez produce un feedback negativo sobre la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . De esta manera, ante un aumento de los niveles de vitamina D se produciría un incremento de la absorción intestinal y de los niveles plasmáticos de  $\text{Ca}^{2+}$  y fósforo, lo que llevaría a la inhibición de la PTH con el consecuente aumento de la excreción de  $\text{Ca}^{2+}$ , consiguiendo mantener estables sus niveles en plasma. Sin embargo, también produce una reducción de eliminación de fósforo, lo que potencialmente produciría un balance positivo del mismo si no existiera la contrarregulación de la vitamina D por FGF23<sup>176</sup>. La regulación de los niveles de FGF23 por el fósforo es muy limitada en comparación con el efecto de la vitamina D, de hecho más que los niveles plasmáticos, lo que afecta a la secreción de la misma es una sobrecarga de fósforo. En cuanto al efecto de la PTH sobre FGF23 parece que ejerce un efecto indirecto a través de su acción sobre los niveles de vitamina D y del metabolismo mineral; de esta manera, la administración continua de PTH produciría un estado catabólico a nivel del hueso y un aumento de los

niveles de FGF23 que compensarían el flujo del fosfato desde el hueso. Sin embargo, la administración intermitente de PTH produce un incremento de la formación ósea y disminución de FGF23 por la necesidad de conservar fosfato<sup>177</sup>. También se ha visto que los miocitos cardiacos pueden producir FGF23 y que sus niveles están elevados en pacientes que presentan miocardiopatía dilatada o cardiopatía isquémica<sup>178,179</sup>. Parece que FGF23 y las citoquinas proinflamatorias forman ciclo regulatorio donde FGF23 aumenta la liberación de citoquinas en los miocitos y macrófagos, y éstas contribuyen al aumento de la producción de FGF23 en hueso y corazón<sup>178,179</sup>. Igualmente, existe evidencia de que la ferropenia y los estímulos proinflamatorios pueden aumentar la secreción de FGF23.



**Figura 14: Efectos de los principales implicados en el metabolismo mineral<sup>180</sup>.**

### 3.3.1 Papel fisiopatológico de FGF23

#### *Papel de FGF23 en el curso de la IRC*

Existe evidencia que sugiere que la elevación de FGF23 es el evento inicial que lleva a la reducción de los niveles de vitamina D y elevación de la PTH en los pacientes con IRC, existiendo estudios que muestran una elevación de FGF23 proporcional a la reducción del filtrado glomerular y mayores elevaciones en pacientes con IRC en fase terminal<sup>181-183</sup>. Cuando hay progresión a la IRC en fase terminal, el progresivo aumento de FGF23 contribuye a una progresión más rápida del fallo y fibrosis renal<sup>184</sup>, disfunción cardíaca, calcificación vascular y aumento de la mortalidad<sup>185,186</sup>.

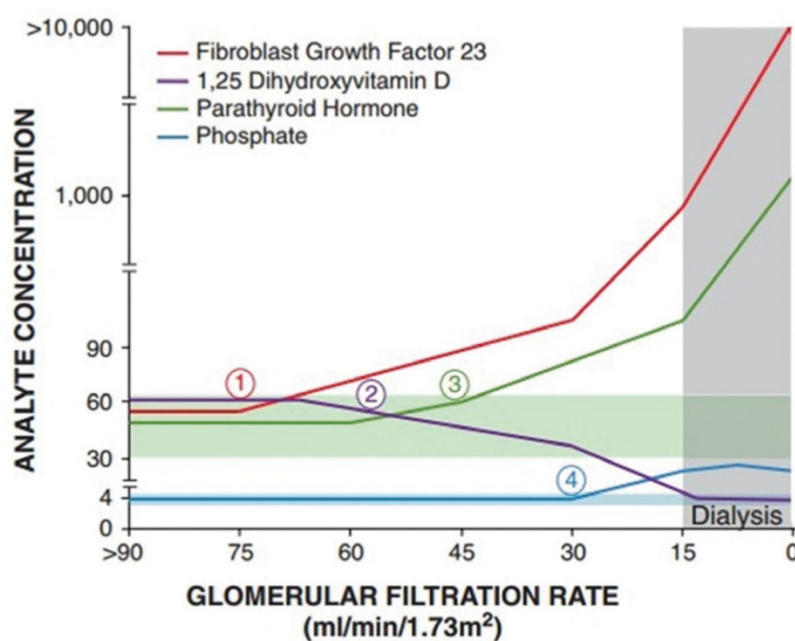


Figura 15: Evolución temporal de los niveles de los principales implicados en el metabolismo mineral en la insuficiencia renal<sup>187</sup>.

#### *Papel de FGF23 en el desarrollo enfermedad cardiovascular y HVI*

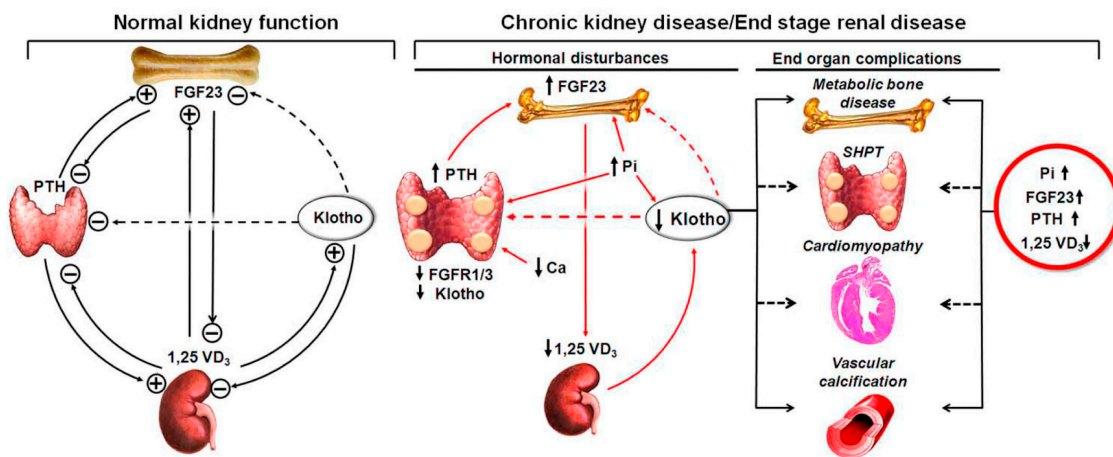
La IRC aumenta el riesgo de muerte prematura, siendo la enfermedad cardiovascular la causa principal. Los trastornos de metabolismo mineral, incluyendo el aumento de niveles de fosfato y FGF23, son frecuentes en ella, y se han asociado con

enfermedad cardiovascular, especialmente HVI, y mortalidad en los pacientes con IRC<sup>188-195</sup>. Aunque también se ha visto asociación entre los niveles de FGF23 con HVI en pacientes con disfunción renal solo ligera<sup>196-200</sup>. En otro estudio en pacientes con enfermedad coronaria estable, FGF23 fue predictor independiente de mortalidad y eventos cardiovasculares, a pesar de que el filtrado glomerular medio fue de 70 ml/min/1,73m<sup>2</sup> en los pacientes que presentaron eventos<sup>201</sup>.

El correceptor de FGF23,  $\alpha$ Klotho, no se expresa en el corazón a niveles fisiológicamente relevantes. Por ello no se espera que haya efectos endocrinos sobre el mismo. Sin embargo, recientemente se ha visto que en ausencia de  $\alpha$ Klotho, FGF23 puede aumentar el calcio intracelular y la contractilidad de los miocitos, y además mediante la activación de la vía de la calcineurina puede producir HVI<sup>195,202</sup>. La isoforma predominante de FGFR en el corazón es FGFR1. FGFR4 también está presente, pero a niveles más bajos. La activación de ambos parece ser suficiente para iniciar una señal prohipertrófica e inducir la remodelación cardíaca. Estos receptores están elevados en la hipertrofia asociada a insuficiencia renal<sup>202,203</sup>. De hecho, el bloqueo de los receptores FGFR4 previene el desarrollo de HVI y fibrosis en ratas, siendo estos efectos independientes de Klotho<sup>204</sup>.

Además, se ha descubierto recientemente que FGF23 también regula el transporte de calcio y sodio en el túbulo distal, favoreciendo la reabsorción de ambos, y este efecto es dependiente de Klotho<sup>205,206</sup>. Este efecto es producido por el aumento de FGF23 secundario a la hiperfosfatemia que se produce en los pacientes que padecen IRC, y puede verse potenciado por la retención de sodio mediada por el concomitante aumento de aldosterona en estos pacientes, lo que puede contribuir a la HVI, insuficiencia cardíaca y mortalidad que se ha asociado con el incremento de los niveles de FGF23<sup>191,195,207</sup>. En este

sentido, nuestro grupo ha descrito que el incremento plasmático de FGF23 se asocia a una mayor incidencia de eventos cardiovasculares, sobre todo en presencia de niveles bajos de vitamina D<sup>155</sup>. Datos similares han sido observados por otro grupo respecto a la progresión de la IRC<sup>208</sup>. A la vista de estos datos cabe pensar que la determinación de los niveles plasmáticos de varios componentes del metabolismo mineral puede aumentar el valor pronósticos.



**Figura 16: Relación fisiológica entre los principales implicados en el metabolismo mineral y su alteración en la insuficiencia renal<sup>209</sup>**

### 3.4 Klotho

αKlotho es una proteína transmembrana tipo I con actividad β-glucuronidasa que sirve como cofactor necesario de FGF23, ya que al unirse al receptor aumenta la afinidad de éste por FGF23. Solo hay un gen αKlotho, pero existen tres isoformas de la proteína, que son la forma transmembrana y dos isoformas solubles que pueden surgir del splicing alternativo de ARN o mediante la escisión del dominio extracelular de la proteína completa<sup>210,211</sup>.

Los principales lugares de expresión de Klotho son los túbulos renales proximal y distal, los plexos coroideos y la glándula paratiroidea<sup>212-217</sup>. La porción soluble de Klotho se encuentra en sangre, orina y líquido cefalorraquídeo. Algunos estudios muestran que tanto la Klotho nuclear como citoplasmática son también moléculas bioactivas y protegen la célula de la apoptosis<sup>218,219</sup>. La vitamina D y Klotho forman ciclo de regulación similar al que forman la vitamina D y PTH. Así, un aumento de la vitamina D produce un aumento de Klotho, que a su vez suprime la producción de vitamina D.

Inicialmente se consideró como un factor antienvjecimiento por la evidencia del fenotipo severamente envejecido, con calcificaciones ectópicas, atrofia orgánica, osteomalacia y muerte prematura que presentaban los ratones con deficiencia de Klotho y FGF23, y que se atribuyó a la inhibición de la señalización de la vía de la insulina por la porción soluble de Klotho<sup>215,220-222</sup>. Los modelos animales Klotho -/- presentan hiperfosfatemia, en parte condicionada por el aumento de la actividad y expresión de los cotransportadores NaPi del riñón, y se ha visto que la disminución del fosfato mediante restricción en la dieta o inducción de pérdidas renales mediante la delección de NaPi-2a es capaz de evitar el daño multiorgánico, lo que indica que la fosfotoxicidad es el principal factor patogénico en estos animales<sup>213,223-225</sup>. También se ha visto que el aumento de la respuesta a la insulina en los ratones Klotho -/- es secundaria a la alteración de la homeostasis mineral y que la capacidad de Klotho de inhibir la señal de insulina/IGF-1 era prescindible para la homeostasis glucídica. Por todo ello, actualmente se piensa que el fenotipo de envejecimiento prematuro en ratones Klotho -/- y FGF23 -/- es causado por la severa hipercalcemia e hiperfosfatemia, y el consiguiente daño orgánico, que se producen como consecuencia de los elevados niveles de vitamina D<sup>226-228</sup>.



### 3.4.1 Funciones de Klotho

Se sabe que la función principal del sistema FGF23 y Klotho es la homeostasis del metabolismo mineral. Sin embargo, las funciones de Klotho siguen siendo una cuestión controvertida. Se han propuesto 3 funciones mayores: función hormonal de la forma soluble, función enzimática como glicosidasa y servir de correceptor de FGF23. De lo que no hay duda en la actualidad es de su papel como correceptor de FGF23 en los órganos diana incrementando la afinidad de su receptor hasta 20 veces<sup>216,229</sup>. En cuanto a la acción hormonal, se han descrito efectos en el riñón, corazón y vasos sanguíneos, además de la acción como inhibidor de la señalización de la insulina. Sin embargo, estas asociaciones no están establecidas y en algunos casos ni siquiera parece que sean secundarias a la acción directa de Klotho. A continuación se detallan las acciones conocidas de Klotho en los diferentes órganos:

- El riñón y Klotho: En condiciones fisiológicas, el riñón es probablemente la mayor fuente de Klotho soluble. Inicialmente no había evidencia de la expresión de Klotho en el túbulo renal proximal, que es donde tienen lugar los efectos biológicos de FGF23 (fosfatúrico y disminución de vitamina D), por lo que una hipótesis era que la acción de FGF23 sobre el túbulo renal distal, donde sí se habían evidenciado la expresión de Klotho, producía la liberación de un factor paracrino que actuaba sobre el túbulo proximal inhibiendo la reabsorción de fosfato<sup>230,231</sup>. Posteriormente se ha visto que Klotho también se expresa en el túbulo proximal y que FGF23 actúa directamente como regulador negativo sobre el canal de fosfato NaPi-2a de manera dependiente de Klotho<sup>212</sup>. También hay evidencia de que Klotho puede tener un efecto fosfatúrico independiente de FGF23, y que se produce por su actividad glucoronidasa<sup>213</sup>.

Klotho, además, juega un papel en la homeostasis del calcio. Por la supresión que ejerce sobre la PTH y vitamina D, indirectamente produce descenso de la absorción intestinal de calcio, y produciría también calciuria, pero la contrarresta parcialmente por la potente acción que ejerce sobre el túbulo distal, donde favorece la reabsorción de calcio estimulando el canal TRPV5<sup>232,233</sup>.

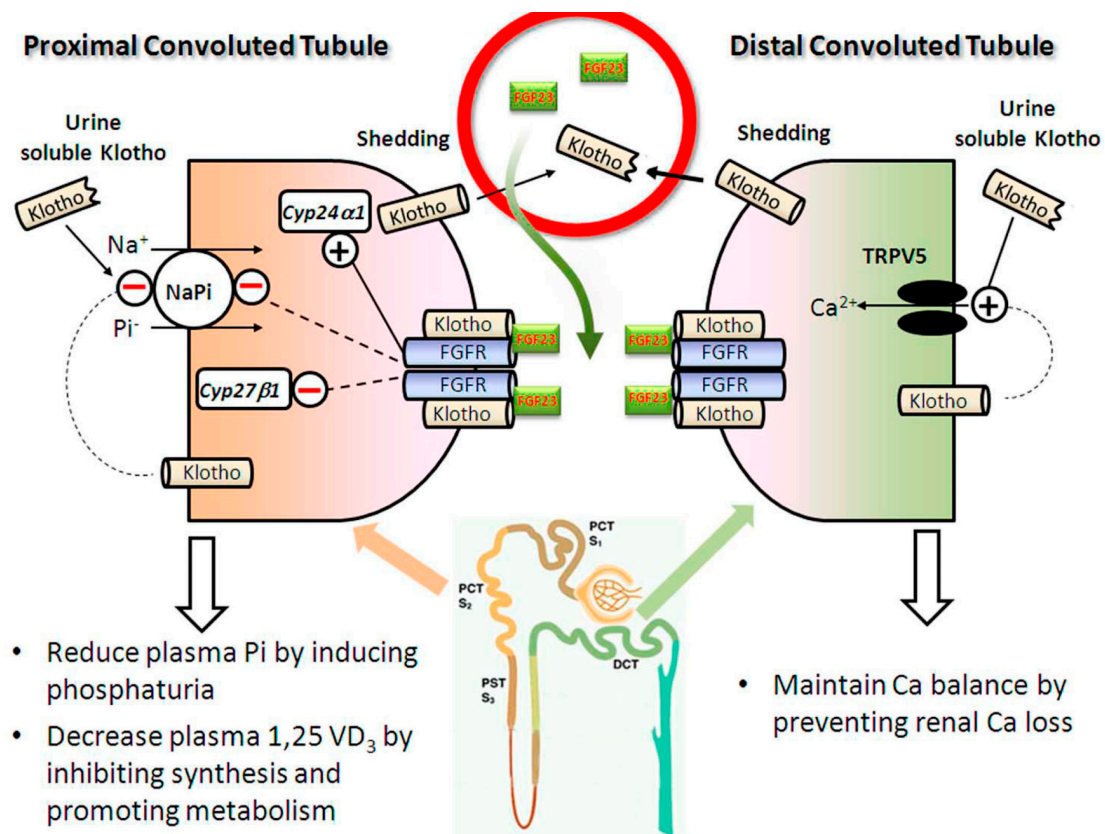


Figura 17: Efecto de Klotho a nivel renal<sup>209</sup>

En cuanto a la relación de Klotho con el daño renal, se ha visto que la deficiencia de Klotho aumenta la senescencia celular inducida por el estrés oxidativo, lo cual unido a la supresión de las células madre, disminuye la capacidad del riñón de defenderse y recuperarse de las agresiones. Además, acelera la fibrogenesis renal, retrasa la regeneración tisular y promueve la progresión del deterioro de la función renal. Por el contrario, se ha visto que Klotho intracelular es

capaz de suprimir la senescencia celular mediante la inhibición la expresión de IL-6 e IL-8, disminuyendo el número de células apoptóticas y mejorando la función y morfología renal tras daño renal agudo y crónico<sup>218,234-236</sup>.

- La acción de Klotho sobre la paratiroides se realiza indirectamente a través de la modulación de los niveles de vitamina D, fosfato y FGF23. La PTH favorece la secreción de FGF23 en el hueso y éste a su vez suprime la secreción de PTH produciendo un feedback negativo, que parece independiente de Klotho, a pesar de que la glándula paratiroidea es un sitio de abundante expresión de Klotho<sup>237</sup>, aunque el mecanismo concreto no está bien definido.
- Klotho se expresa a niveles muy bajos en el hueso. La osteomalacia en ratones deficientes en Klotho es causada exclusivamente por la activación de pirofostato y osteopontina producidas por la vitamina D, por lo que Klotho no tiene un papel independiente en la mineralización ósea. Sin embargo, el déficit de FGF23 sí contribuye mediante la regulación de fosfatasa alcalina y subsecuente expresión de osteopontina, actuando así como un factor autocrino/paracrino<sup>238</sup>.
- Sistema nervioso central: Se ha visto asociación inversa de Klotho con el envejecimiento y desarrollo de enfermedad de Alzheimer en ratones, más aún, la sobreexpresión de Klotho mostró mejoría cognitiva y protección frente a mortalidad prematura en modelos de enfermedad de Alzheimer<sup>239-241</sup> aunque el mecanismo está por aclarar.
- Sistema cardiovascular: A pesar de que existen trabajos aislados acerca de la expresión de Klotho en arterias y células del musculo liso vascular, actualmente hay un acuerdo general de que no hay expresión de Klotho ni en el corazón ni en los vasos sanguíneos, al menos a niveles fisiológicamente significativos<sup>195,204,242,243</sup>. Tanto el déficit de vitamina D y Klotho como los niveles elevados de FGF23

contribuyen a la HVI<sup>195,244</sup>. En ratones, el déficit de Klotho se asocia con HVI no relacionada con HTA, pero sí podría ser dependiente de FGF23. El desarrollo de HVI asociado con FGF23 está condicionado por el aumento de la reabsorción de sodio y retención hídrica que produce y además, parece que puede producir HVI mediante la acción directa sobre los miocitos, por un mecanismo independiente de Klotho y mediada por FGFR4.

Se ha visto que la forma soluble de Klotho tiene efecto cardioprotector, mediante la regulación negativa de los canales de calcio, y que produce inhibición directa de la entrada de fosfato en las células del músculo liso vascular<sup>245,246</sup>. Los ratones Klotho -/- presentan calcificación excesiva de los tejidos blandos similar a la vista en sujetos con IRC, en los que se ha visto disminución de la expresión de Klotho, FGFR1 y FGFR3<sup>247</sup>. Además, se ha descrito que el aumento de Klotho disminuye la calcificación vascular en animales mediante la disminución del fosfato plasmático, inhibición de Pit-1 y Pit-2 en el sistema vascular, disminuyendo la apoptosis de las células del endotelio y músculo liso, y funcionando como un modulador antiinflamatorio<sup>246,248-251</sup>. Por el contrario, en algunos estudios de cohortes no se ha observado relación entre Klotho y el riesgo cardiovascular, tanto en pacientes con IRC como en pacientes sometidos a coronariografía<sup>252,253</sup>. Sin embargo, nada se sabe del valor pronóstico de Klotho en pacientes con enfermedad coronaria estable.

# RECAPITULACIÓN

---

La enfermedad cardiovascular, y más concretamente la aterosclerosis, tienen una gran importancia por su impacto tanto sanitario como económico. A pesar de los avances de la Medicina, sigue habiendo eventos cardiovasculares, tanto en la población general como en los pacientes ya diagnosticados de esta patología. Una de las acciones clave para reducir la incidencia de eventos cardiovasculares es una correcta identificación de los pacientes con mayor riesgo, para concentrar en ellos los tratamientos más intensivos, así como para testar en esta población potenciales terapias novedosas.

A pesar de las relaciones que se han establecido entre las alteraciones del metabolismo mineral y el pronóstico de los pacientes con enfermedad renal crónica, el interés en el papel de este sistema en el desarrollo de aterosclerosis ha sido limitado. Sin embargo, está demostrado que tanto unos niveles bajos de calcidiol como elevados de fósforo, PTH y FGF23 se asocian a más daño y eventos cardiovasculares. Nuestro grupo es pionero en nuestro país en el estudio del metabolismo mineral en pacientes con enfermedad coronaria. Así, ha descrito una alta prevalencia de alteraciones de los niveles plasmáticos de los componentes de este sistema en estos pacientes. Igualmente, hemos mostrado que la combinación de niveles bajos de calcidiol y altos de FGF23 se asocia a un pronóstico especialmente malo en estos pacientes.

En los últimos años, se han descrito múltiples acciones de Klotho, el co-receptor de FGF23 que puede hallarse en forma soluble en plasma. Así, se ha visto que el aumento de Klotho soluble disminuye la calcificación, la apoptosis y modula la señal antiinflamatoria a nivel vascular. Sin embargo, a día de hoy, nadie ha estudiado una posible asociación de los niveles plasmáticos de Klotho con el pronóstico en pacientes coronarios, si sus niveles pueden influenciar el valor pronóstico de otros componentes del sistema de metabolismo

mineral y si el potencial valor pronóstico varía en presencia/ausencia de insuficiencia renal. La presente Tesis busca indagar en estas áreas para profundizar en el potencial papel pronóstico de Klotho en pacientes con enfermedad coronaria.

# HIPÓTESIS

---

A la vista de lo expuesto en la Introducción, nuestras hipótesis serán que, en una población de pacientes con cardiopatía isquémica crónica:

1. Los pacientes presentan frecuentemente alteraciones en los niveles plasmáticos de los diferentes elementos del metabolismo mineral, incluyendo fósforo, calcidiol, PTH y FGF23.
2. Aunque las alteraciones del metabolismo mineral serán especialmente marcadas en pacientes con filtrado glomerular renal menor de  $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , también estarán presentes en los que tengan el filtrado por encima de este valor.
3. Los niveles de Klotho y calcidiol serán significativamente más bajos en pacientes que desarrollen eventos cardiovasculares, mientras que los de FGF23, PTH y fósforo serán más altos.
4. En el análisis multivariado, FGF23 será un predictor independiente de eventos pese a considerar un completo conjunto de variables analíticas y clínicas, incluyendo los tratamientos recibidos por los pacientes. Calcidiol y Klotho también podrían ser predictores independientes, aunque es menos probable que esto ocurra.
5. El valor predictivo de los componentes del metabolismo mineral puede verse afectado por los niveles plasmáticos de Klotho.
6. El valor predictivo de los componentes del metabolismo mineral también puede verse afectado por el filtrado glomerular renal, siendo más relevante en los pacientes que lo tengan por debajo de  $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ .

# OBJETIVOS

---

En una población de 990 pacientes con enfermedad coronaria crónica estudiaremos:

1. La prevalencia de las alteraciones en los niveles plasmáticos de los diferentes elementos del metabolismo mineral, incluyendo fósforo, calcidiol, PTH y FGF23.
2. Las diferencias en los niveles plasmáticos de estos componentes del metabolismo mineral en pacientes con filtrado glomerular renal menor y mayor de 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, comparando los resultados de ambos grupos.
3. Las diferencias entre los niveles de Klotho, calcidiol, FGF23, PTH y fósforo en los pacientes que desarrollen tanto los dos objetivos secundarios (eventos isquémicos agudos e IC o muerte) como el objetivo primario, que será el combinado de los secundarios.
4. El valor predictivo independiente de los niveles plasmáticos de los componentes del metabolismo mineral para el desarrollo de los tres objetivos descritos.
5. Si el valor predictivo de los componentes del metabolismo mineral puede verse afectado por los niveles plasmáticos de Klotho.
6. Si el valor predictivo de los componentes del metabolismo mineral puede también verse afectado por el filtrado glomerular renal.



# MÉTODOS

---

## 1 Declaración Ética

El protocolo del estudio BACS-BAMI (Biomarkers in acute coronary syndrome and biomarkers in acute myocardial infarction) cumple con las directrices éticas de la Declaración de Helsinki de 1975 y fue aprobado por los comités éticos de los centros participantes: Fundación Jiménez Díaz, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Hospital Universitario de Fuenlabrada, Hospital Fundación de Alcorcón y Hospital Universitario de Móstoles. A todos los pacientes se les informó verbalmente y firmaron el consentimiento informado.

## 2 Población: Estudio BACS-BAMI

En el estudio BACS-BAMI se incluyeron, entre julio de 2006 y junio 2014, pacientes ingresados por síndrome coronario agudo, en los hospitales mencionados. Se incluyeron pacientes con SCASEST e SCACEST. El SCASEST fue definido como dolor torácico de reposo de más de 20 minutos en las 24 horas anteriores, o aparición reciente de angina grado III-IV y descenso transitorio de ST o inversión de la onda T evaluado por el cardiólogo experimentado de dichos centros y/o elevación de troponina. El SCACEST fue definido como angina o síntomas agudos compatibles con el diagnóstico de más de 20 minutos de duración con presencia de elevación del segmento ST en dos derivaciones contiguas en el electrocardiograma y sin respuesta a la nitroglicerina y elevación de troponina. El tratamiento durante el ingreso y al alta se dejó a la elección del médico responsable, basándose en las recomendaciones actuales<sup>254,255</sup>.

Los criterios de exclusión fueron: Edad mayor de 85 años, la coexistencia de otras cardiopatías excepto la hipertrofia ventricular izquierda secundaria a hipertensión arterial, coexistencia de alguna enfermedad o hábito tóxico que limitara la supervivencia, enfermedad coronaria no susceptible de revascularización y sujetos cuyo seguimiento no fuera posible. Con el objetivo de evitar la variabilidad en los resultados debido a una excesiva heterogeneidad en los intervalos entre el evento agudo y la extracción de sangre, se incluyó como criterio de exclusión que el paciente no estuviera estable al sexto día desde el evento principal.

## ***2.1 Inclusión y seguimiento de los pacientes***

Tras explicar el protocolo y recoger el consentimiento informado, a los pacientes incluidos en el estudio se les realizaba una primera extracción de sangre entre el segundo y sexto día de ingreso, se recogían los datos de los antecedentes personales y los correspondientes al ingreso actual mediante entrevista directa con el paciente y revisión de la historia clínica.

El seguimiento clínico habitual, al igual que el tratamiento, se realizó a discreción del médico responsable del paciente. Independientemente del seguimiento habitual, entre los 6 y 12 meses después de ingreso inicial, se realizaba una nueva visita presencial y se realizaba una segunda extracción de analítica. Al final del seguimiento se realizó una última visita consistente en revisar la historia clínica y hacer una entrevista telefónica para recoger las variables clínicas y comprobar el tratamiento habitual.

## **2.2 Exclusiones**

Durante el tiempo de inclusión, en los 5 hospitales que participaron, se dieron de alta a 2751 pacientes con el diagnóstico de síndrome coronario agudo. 1477 pacientes no fueron incluidos en el estudio por los siguientes motivos:

- Edad mayor de 85 años: 16,5%
- Comorbilidades que limitaban la esperanza de vida: 28,1%
- Otras cardiopatías asociadas: 5,7%
- Pacientes que continuaban inestables al sexto día de ingreso: 14,6%
- Pacientes en los que no se pudo realizar un procedimiento de revascularización adecuado: 9,6%
- Trastornos psiquiátricos que no garantizaban el cumplimiento del tratamiento: 4,4%
- Consumo de drogas (incluyendo alcohol): 1,5%
- Imposibilidad de realizar un adecuado seguimiento: 11,9%
- Pacientes perdidos por los investigadores: 6,2%
- Rechazo a la participación en el estudio: 1,5%

El resto, 1274 pacientes, fueron incluidos en el estudio BACS-BAMI. De éstos, 17 pacientes se perdieron durante el seguimiento, y en 267 casos no se obtuvo la muestra a los 6-12 meses de la inclusión. Quedaron, por tanto, un total de 990 pacientes para el estudio realizado en esta tesis.

### 3 Diseño del presente trabajo

Esta Tesis es un subestudio del BACS-BAMI, basado en los datos clínicos y de laboratorio obtenidos en la visita ambulatoria realizada 6-12 meses después del evento agudo y el posterior seguimiento de esos pacientes. Se trata pues, de un estudio realizado en pacientes con enfermedad coronaria estable. Estas visitas ambulatorias, que son el inicio del presente subestudio, tuvieron lugar entre de enero de 2007 y diciembre de 2014. Se concluyó el seguimiento posterior el día 17 de junio de 2016.

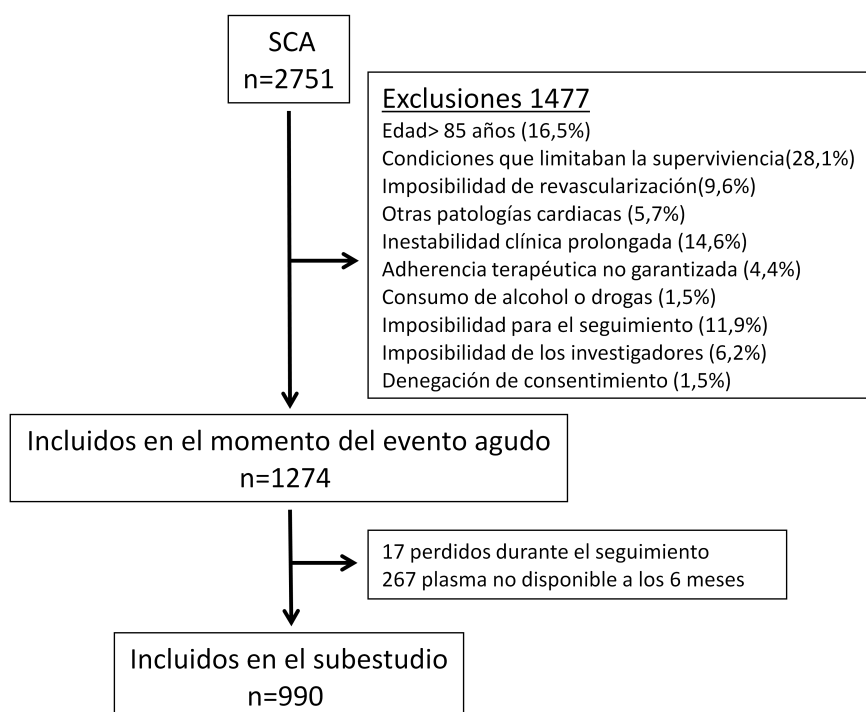


Figura 18: Diagrama de flujo del estudio

#### 3.1 Definición de eventos

Se definieron tres Objetivos:

- Objetivo Principal: combinación de eventos isquémicos agudos (SCASEST, IAMCEST, ACV o AIT), IC o muerte.

- Objetivos Secundarios:
  - a. El desarrollo de IC o muerte
  - b. El desarrollo de eventos isquémicos agudos (SCASEST, IAMCEST, ACV o AIT).

Definición de eventos:

- SCASEST, IAMCEST se definieron como se describe en los criterios de inclusión y de acuerdo a las definiciones actuales de las sociedades científicas<sup>254,255</sup>.
- ACV: déficit neurológico focal de más de 24 horas de duración o aparición de nuevas lesiones isquémicas en las técnicas de imagen.
- AIT: déficit neurológico focal de menos de 24 horas de duración en ausencia lesiones isquémicas en las técnicas de imagen.
- IC se definió de acuerdo a la definición actual de las sociedades científicas<sup>256</sup> siempre que requiriera ingreso hospitalario.

La comprobación de los eventos se realizó al menos por dos investigadores diferentes, además de un neurólogo cuando se trataba de eventos cerebrovasculares. Todos los eventos fueron registrados y contabilizados. Sin embargo, los pacientes que presentaron más de un evento solo se contaron una vez al ser excluidos del análisis de regresión de Cox después del primer evento.

## 4 Determinaciones analíticas

Las muestras de sangre venosa se introducían en tubos de EDTA. Se centrifugaban a 2500 rpm durante 10 minutos, extrayendo el plasma para congelarlo posteriormente a -80°C.

Los investigadores encargados de los estudios analíticos desconocían por completo los datos clínicos de los pacientes. Las determinaciones de calcidiol, FGF23, PTH y Klotho, se realizaron en el laboratorio de metabolismo mineral del Hospital Gómez Ulla y, las restantes, en el laboratorio de Bioquímica de la Fundación Jiménez Díaz.

Los niveles de calcidiol se obtuvieron mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia (LIAISON 25OH-Vitamin D total Assay DiaSorin, Saluggia, Italy), los de FGF23 mediante ELISA (Human FGF23, C-Term, Immutopics Inc, San Clemente, CA), los de PTH mediante método de quimioluminiscencia automático de segunda generación (Elecsys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), los niveles de Klotho mediante ELISA (Human soluble alpha Klotho assay kit, Immuno-Biological Laboratories Co., Japón), el fosfato mediante método enzimático (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) y la hsPCR de alta sensibilidad mediante inmunoturbidimetría potenciada por látex (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany). Los niveles de lípidos, glucosa y creatinina se obtuvieron por métodos estándar (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany). El cálculo del filtrado glomerular (FGR) se realizó por el método de CKD-EPI.

## 5 Análisis estadístico

Los datos analíticos que presentaban una distribución normal se muestran como media y desviación estándar. Aquellos que no se ajustaban a una distribución normal se muestran como mediana y rango intercuartílico. Las variables cualitativas se presentan como porcentajes. Las correlaciones entre variables cuantitativas se obtuvieron mediante coeficiente de correlación de Pearson, utilizando una transformación logarítmica para las variables que no se ajustaban a la distribución normal.

Los niveles de calcidiol se evaluaron usando categorías y como una variable continua. Esto se hizo por la existencia de cuatro categorías relevantes de niveles de calcidiol<sup>257</sup>: 0,00-10,00 ng/ml (déficit severo), 10,01-20,00 ng/ml (déficit moderado), 20,01-30,00 ng/ml (niveles subóptimos), y > 30,00 ng/ml (suficiente).

Las diferencias entre las características basales de los pacientes que presentaron un evento adverso y los que no se evaluaron mediante  $\chi^2$  o test exacto de Fisher si las variables eran cualitativas. Para las variables cuantitativas se utilizó test de “t” de Student en las variables que seguían una distribución normal y el test de Mann-Whitney cuando no cumplían criterios de normalidad.

Se realizó regresión de Cox univariada para estudiar cuales de las variables clínicas y analíticas estudiadas se asociaban a mayor o menor riesgo de presentar los eventos adversos definidos en los objetivos. A continuación se realizó análisis de Cox multivariado usando las variables que habían mostrado significación estadística en el análisis univariado, con el objetivo de encontrar aquellas que se asociaron de manera independiente con el riesgo de padecer eventos adversos. Se realizaron nuevamente los test dividiendo a los pacientes según si nivel de Klotho que presentaban estaba por encima o por debajo de

la mediana para ver la posible influencia que los niveles de Klotho ejercían sobre el riesgo atribuible a otras variables, fundamentalmente de aquellas relacionadas con el metabolismo mineral. La comparación de los resultados obtenidos en las dos poblaciones se realizó mediante un contraste sobre el término de interacción en el modelo de Cox. La significación estadística del término de interacción se llevó a cabo mediante el test de razón de verosimilitudes. También se realizaron nuevamente los análisis univariado y multivariado dividiendo a los pacientes según tuvieran función renal normal ( $\text{FGR} > 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ) o función renal alterada.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics 19.0 (IBM Corp, New York) considerando significativo cuando el valor “p” era inferior a 0,05.



# RESULTADOS

---

## 1 Características basales de los pacientes

Se incluyeron un total de 1007 pacientes, 17 de los cuales se perdieron durante el seguimiento, con lo que finalmente se incluyeron en el análisis 990. La edad media fue de  $61,3 \pm 12,1$  años y el 76,3% de los pacientes fueron varones. El porcentaje de pacientes con HTA fue de 63,7%, el de DM 23,9%, el de dislipemia 60,1% y el de fumadores activos de 13,5%. El último SCA fue un SCACEST en 49,1% de los pacientes y SCASEST en 50,9%, siendo en la mayoría de los pacientes (54,9%) enfermedad monovaso. El porcentaje de pacientes con disfunción ventricular ( $FEVI < 40\%$ ) fue de 7,5% y el de pacientes con fibrilación auricular (FA) 6,6%.

El tratamiento que seguían se ajusta a las recomendaciones actuales, con más de un 90% de tratamiento con AAS y estatinas, y más de un 70% doble antiagregación, betabloqueantes e IECA/ARA2. Prácticamente un 85% fueron sometidos a algún tratamiento revascularizador y solo en un 27,6% la revascularización no fue completa.

En cuanto a las principales variables analíticas, el filtrado glomerular medio fue de  $66,38 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , teniendo un filtrado menor de  $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  un 43,13%. El nivel medio de calcidiol fue 20,29 ng/ml, presentando un nivel inferior a 10 ng/ml en 10,5%, 10,01-20 ng/ml un 43,8%, 20,01-30 ng/ml un 33,2% y mayor de 30 ng/ml un 12,5%. Por lo tanto, se apreciaron niveles insuficientes de vitamina D en un 87,5% de los pacientes. El valor medio del nivel de LDL fue de  $80,57 \pm 25,04 \text{ mg/dl}$  y el de fósforo  $3,166 \pm 0,549 \text{ mg/dl}$ . La mediana del nivel de parathormona fue 58,2 (44,41-75,38) pg/ml, de FGF23 78,8 (59,5-102,9) RU/ml y Klotho 569 (469,5-690) pg/ml.

VARIABLE	Valor
Fósforo (mg/dl)	3,166 ± 0,549
Calcidiol (ng/dl)	20,29 ± 8,578
Calcidiol categorías (%)	
• ≤ 10 ng/ml	10,5
• 10,01-20 ng/ml	43,8
• 20,01-30 ng/ml	33,2
• > 30 ng/ml	12,5
FGF23 (RU/ml)	78,80 (59,50 - 102,9)
Klotho (pg/ml)	569,0 (469,5 - 690,0)
PTH (pg/ml)	58,20 (44,41 - 75,38)

**Tabla 1: Valores basales de los componentes del metabolismo mineral**

## 2 Prevalencia de las alteraciones de los niveles de los componentes del metabolismo mineral

Valoramos como alteraciones del metabolismo mineral los niveles elevados de fósforo, PTH y FGF 23, así como los niveles disminuidos de calcidiol. En este apartado no estudiamos las alteraciones del nivel de Klotho ya que en su caso no existen rangos de normalidad estandarizados. Como se puede ver en la tabla 2, hasta en un 87,5% de los pacientes los niveles de calcidiol estaban por debajo de lo considerado como suficiente. Igualmente, casi una cuarta parte de los pacientes presentaron niveles elevados de PTH y más de un 40 % en el caso de FGF23. Por el contrario, fueron muy pocos los pacientes que presentaron niveles elevados de fósforo.

	Porcentaje de pacientes
Fósforo > 4,5 mg/dl	0,9 %
Calcidiol ≤ 30 ng/ml	87,5 %
FGF23 > 85,5 RU/ml	41,3 %
PTH > 74 pg/ml	24,7 %

**Tabla 2: Porcentaje de pacientes con alguna alteración del nivel de los componentes del metabolismo mineral.**  
Se entiende por alteración niveles elevados de fósforo, FGF23 y PTH, y disminuidos de calcidiol.

Posteriormente estudiamos las diferencias en los niveles plasmáticos de estos componentes del metabolismo mineral en pacientes con filtrado glomerular renal menor y

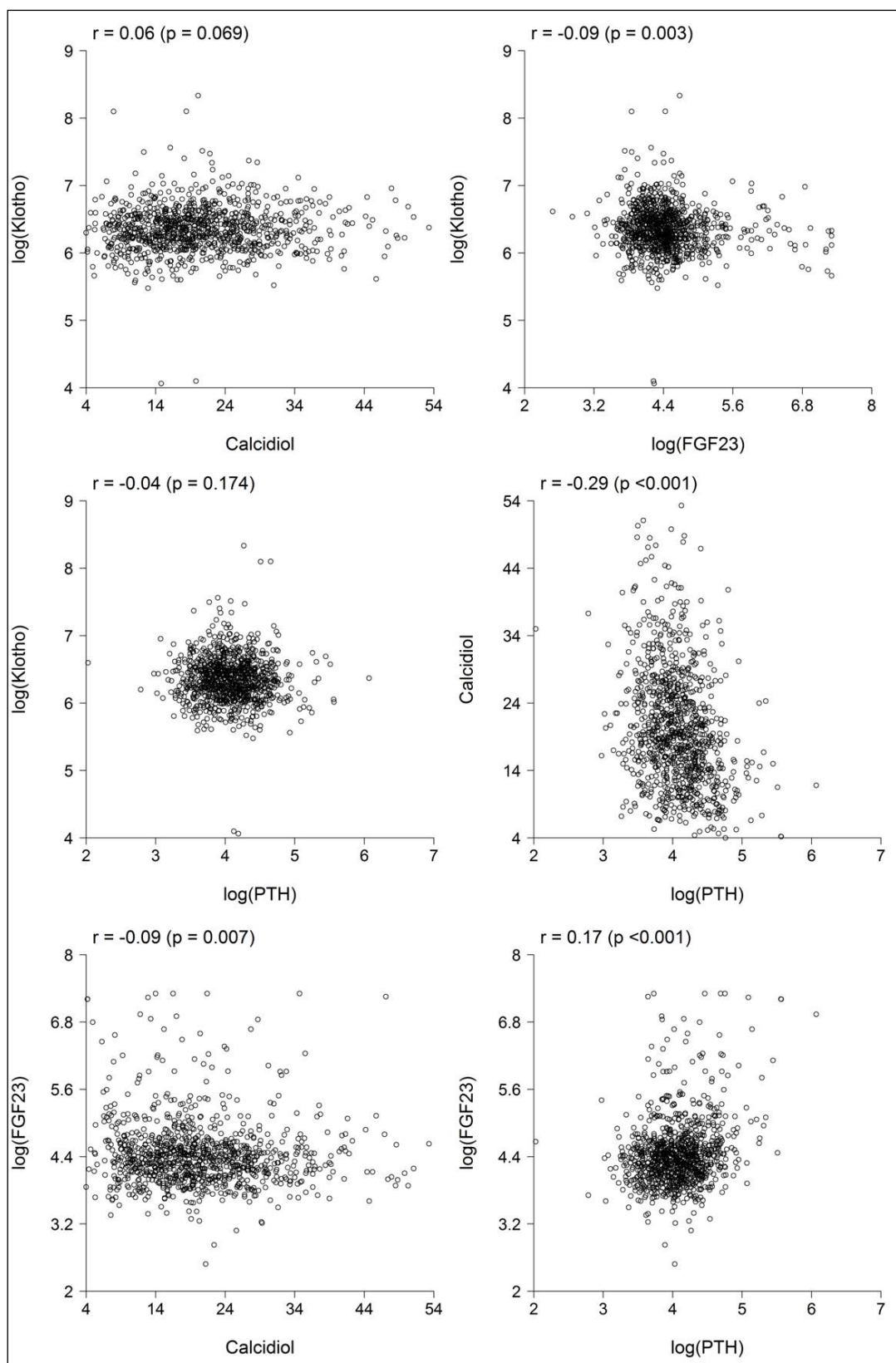
mayor de 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, apreciando que para los niveles de fósforo y calcidiol no había diferencia significativa entre ambos grupos. Sin embargo, los niveles FGF23 y PTH eran mayores en los pacientes con FGR < 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, mientras que los de Klotho eran menores (tabla 3).

	FGR < 60 ml/min/1,73m <sup>2</sup>	FGR ≥ 60 ml/min/1,73m <sup>2</sup>	p
Fósforo (mg/dl)	3,1 (2,8 – 3,5)	3,2 (2,8 – 3,5)	0,358
Calcidiol (ng/ml)	19,4 (14,2 – 25,7)	19,1 (14,1 – 25,2)	0,457
FGF23 (RU/ml)	85,1 (62,8 – 117,5)	75,4 (57,6 – 95,4)	<b>&lt;0,001</b>
Klotho (pg/ml)	535,1 (443,7 – 657,9)	590,7 (496,5 – 719,2)	<b>&lt;0,001</b>
PTH (pg/ml)	60,4 (45,9 – 82,5)	56,2 (44,1 – 71,3)	<b>0,001</b>

**Tabla 3:** diferencias de los niveles de los componentes del metabolismo mineral según la función renal

### 3 Correlación entre los diferentes elementos del metabolismo mineral

Se establecieron las correlaciones entre los diferentes elementos del metabolismo mineral. Los resultados se muestran en la figura 19. A pesar de que en alguna ocasión se alcanzó la significación estadística (posiblemente por el amplio tamaño muestral). Los coeficientes de correlación fueron muy bajos, siendo en el mejor de los casos de -0,29 (p<0,001) para la relación entre calcidiol y PTH.



**Figura 19: Correlación entre los diferentes elementos del metabolismo mineral.** Las variables que no presentaban una distribución normal se muestran como transformación logarítmica.

## 4 Eventos clínicos

El seguimiento medio fue de  $5,0 \pm 2,8$  años, durante el que se contabilizaron un total de 289 eventos. Entre los eventos no mortales (208 en total), la gran mayoría se correspondieron con eventos isquémicos (SCA, ACV o AIT); hubo 109 SCA (44 anginas inestables, 49 IAMSEST y 16 IAMCEST), 38 eventos cerebrovasculares (20 ACV y 18 AIT) y 61 episodios de IC.

Hubo 81 muertes durante el seguimiento. En 27 ocasiones la muerte fue de causa cardiovascular (11 episodios de IC, 8 muertes súbitas, 4 ACV, 3 SCA, y una muerte por fibrilación ventricular en el postoperatorio de un recambio valvular aórtico). Las otras causas mayoritarias de mortalidad fueron cáncer en 15 pacientes e infección en otros 11 pacientes. Otras causas de mortalidad menos frecuentes fueron insuficiencia renal, isquemia intestinal, complicaciones hemorrágicas, pancreatitis, reagudización de EPOC, TEP y TCE. En 7 casos la causa de la muerte es desconocida.

Los 289 eventos se presentaron en 194 pacientes, de los cuales 40 presentaron 2 eventos, 20 pacientes 3 eventos y 5 pacientes 4 eventos.

La tabla 4 muestra la distribución de las diversas variables clínicas y analíticas en los pacientes que desarrollaron el objetivo primario frente a los que permanecieron estables.

Variable	Sin evento	Con evento	p
Edad	59,92 ± 11,64	67,00 ± 12,19	<b>&lt;0,001</b>
SEXO (Varón)	617 (77,6%)	137 (70,6%)	0,050
Raza caucásica	768 (96,6%)	190 (97,9%)	0,468
IMC	28,33 ± 4,109	29,02 ± 5,196	0,091
Tabaquismo	117 (14,7%)	17 (8,8%)	<b>0,040</b>
HTA	478 (61,4%)	151 (80,3%)	<b>&lt;0,001</b>
DM	176 (22,2%)	60 (30,9%)	<b>0,013</b>
Dislipemia	469 (59%)	125 (64,4%)	0,192
Arteriopatía periférica	27 (3,4%)	11 (5,7%)	0,204
ACVA	17 (2,1%)	10 (5,2%)	<b>0,039</b>
ICP previo	52 (6,5%)	25 (12,9%)	<b>0,005</b>
Cirugía de revascularización previa	46 (5,9%)	26 (14,1%)	<b>&lt;0,001</b>
Disfunción VI (FE<40)	41 (5,2%)	24 (12,4%)	<b>0,001</b>
Fibrilación auricular	665 (83,6%)	155 (79,9%)	0,255
AAS	743 (93,6%)	174 (89,7%)	0,085
AntiP2Y12	605 (76,2%)	130 (67%)	<b>0,011</b>
Anticoagulantes	32 (4%)	21 (10,8%)	<b>&lt;0,001</b>
Estatinas	734 (92,4%)	159 (82%)	<b>&lt;0,001</b>
Insulina	40 (5%)	25 (12,9%)	<b>&lt;0,001</b>
ADO	130 (16,4%)	38 (19,6%)	0,336
IECAS	514 (64,7%)	99 (51%)	<b>0,001</b>
ARAI	102 (12,8%)	47 (24,2%)	<b>&lt;0,001</b>
Antialdosterónicos	46 (5,8%)	22 (11,3%)	<b>0,010</b>
Betabloqueantes	644 (81,1%)	131 (67,5%)	<b>&lt;0,001</b>
Diltiazem	16 (2%)	10 (5,2%)	<b>0,028</b>
Verapamil	1 (0,1%)	2 (1%)	0,100
Dihidropiridinas	88 (11,1%)	45 (23,2%)	<b>&lt;0,001</b>
Diuréticos	121 (15,2%)	57 (29,4%)	<b>&lt;0,001</b>
Digoxina	1 (0,1%)	2 (1%)	0,100
SCACEST *	418 (52,6%)	68 (35,1%)	<b>&lt;0,001</b>
Número de vasos afectados *			<b>0,013</b>
• 0	61 (7,9%)	15 (8,2%)	
• 1	445 (57,3%)	82 (44,6%)	
• 2	188 (24,2%)	59 (32,1%)	
• 3	82 (10,6%)	28 (15,2%)	
Enfermedad de TCI *	22 (2,8%)	9 (4,6%)	0,266
Revascularización*	700 (88,1%)	164 (84,5%)	0,230
Tipo revascularización *			0,205
• No revascularización	115 (14,5%)	41 (21,1%)	
• Stent farmacoactivo	418 (52,6%)	92 (47,4%)	
• Stent convencional	202 (25,4%)	47 (24,2%)	
• Angioplastia con balón	24 (3%)	4 (2,1%)	
• Cirugía de revascularización	36 (4,5%)	10 (5,2%)	
Revascularización completa *	587 (73,8%)	108 (55,7%)	<b>&lt;0,001</b>
Glucosa (mg/dl)	107,1 ± 28,26	115,0 ± 48,86	<b>0,031</b>
HDL (mg/dl)	41,67 ± 10,54	43,86 ± 11,77	<b>0,018</b>
LDL (mg/dl)	79,54 ± 23,39	84,84 ± 30,64	<b>0,025</b>
No HDL (mg/dl)	102,8 ± 27,60	111,4 ± 38,84	<b>0,004</b>
TG (mg/dl)	98 (74 - 137)	113,5 (87 - 151,8)	<b>&lt;0,001</b>
Creatinina (mg/dl)	0,990 (0,825 - 1,100)	1,000 (0,900 - 1,200)	<b>&lt;0,001</b>
FGR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	68,25 ± 19,80	58,67 ± 21,82	<b>&lt;0,001</b>
hsPCR (mg/l)	1,020 (0,274 - 2,893)	1,848 (0,728 - 4,425)	<b>&lt;0,001</b>
Fosforo (mg/dl)	3,157 ± 0,529	3,202 ± 0,625	0,355
Calcidiol (ng/ml)	20,78 ± 8,712	18,24 ± 7,702	<b>&lt;0,001</b>
Calcidiol categorías (%)			<b>0,008</b>
• ≤ 10 ng/ml	77 (9,7%)	27 (13,9%)	
• 10,01-20 ng/ml	334 (42,1%)	99 (51%)	
• 20,01-30 ng/ml	275 (34,6%)	52 (26,8%)	
• > 30 ng/ml	108 (13,6%)	16 (8,2%)	
FGF23 (RU/ml)	76,50 (58,70 - 99,70)	84,95 (65,30 - 131,3)	<b>&lt;0,001</b>
Klotho (pg/ml)	576,5 (472,5 - 699,4)	549,7 (467,3 - 652,9)	0,061
PTH (pg/ml)	56,50 (44,14 - 73,02)	63,30 (46,16 - 89,40)	<b>&lt;0,001</b>

**Tabla 4: Comparativa entre pacientes que presentaron el evento primario y los que permanecieron estables.**  
ACVA: accidente cerebrovascular agudo. CABG: cirugía de revascularización coronaria. ICP: intervencionismo coronario percutáneo. IMC: índice de masa corporal. FGR: filtrado glomerular. hsPCR: proteína C reactiva de alta sensibilidad. TCI: tronco coronario izquierdo. TG: triglicéridos. \* último SCA

## **5 Valor pronóstico de los niveles de calcidiol, PTH, FGF23 y Klotho en todos los pacientes**

Con el objetivo de identificar las variables relacionadas con el pronóstico, inicialmente se realizó un análisis univariado según el modelo de Cox (tabla 5). Como se puede apreciar, los niveles de Klotho y calcidiol se correlacionaron inversamente con la probabilidad de desarrollar el Objetivo Principal, mientras que FGF23 y PTH lo hicieron directamente. Estas correlaciones se mantenían para el desarrollo del objetivo de IC o muerte, mientras que para el objetivo de eventos isquémicos agudos solo eran significativos PTH y calcidiol, perdiendo la significación Klotho y FGF23. Estos datos sugieren que el metabolismo mineral es fundamentalmente predictor de IC o muerte, pero es menos relevante en la predicción de eventos isquémicos agudos.

Variable	Objetivo principal			Eventos isquémicos agudos			IC o muerte		
	HR	(95% CI)	P	HR	(95% CI)	P	HR	(95% CI)	P
Edad	1,046	(1,033 - 1,059)	<0,001	1,018	(1,002 - 1,033)	0,023	1,092	(1,071 - 1,114)	<0,001
SEXO (Varón)	0,745	(0,547 - 1,015)	0,068	0,752	(0,506 - 1,117)	0,166	0,651	(0,432 - 0,98)	0,046
Raza caucásica	1,060	(0,393 - 2,859)	0,907	0,654	(0,241 - 1,777)	0,435			
IMC	1,026	(0,993 - 1,060)	0,133	1,030	(0,989 - 1,073)	0,167	1,029	(0,984 - 1,076)	0,219
Tabaquismo	0,659	(0,400 - 1,084)	0,082	0,708	(0,38 - 1,318)	0,254	0,438	(0,192 - 0,998)	0,026
HTA	2,347	(1,631 - 3,376)	<0,001	2,137	(1,352 - 3,379)	0,001	2,904	(1,703 - 4,952)	<0,001
DM	1,488	(1,095 - 2,022)	0,013	1,532	(1,037 - 2,262)	0,037	1,703	(1,134 - 2,558)	0,013
Dislipemia	1,244	(0,927 - 1,670)	0,142	1,368	(0,931 - 2,009)	0,105	0,957	(0,648 - 1,414)	0,825
Arteriopatía periférica	1,596	(0,868 - 2,934)	0,160	1,179	(0,481 - 2,889)	0,726	1,915	(0,888 - 4,130)	0,130
ACVA	2,223	(1,176 - 4,202)	0,028	1,679	(0,685 - 4,114)	0,294	3,469	(1,685 - 7,142)	0,004
ICP previo	0,952	(0,670 - 1,354)	0,787	1,153	(0,712 - 1,867)	0,556	0,859	(0,54 - 1,366)	0,527
CABG previa	1,939	(1,274 - 2,952)	0,004	1,795	(1,043 - 3,087)	0,049	1,936	(1,102 - 3,401)	0,034
Disfunción VI (FE<40)	2,045	(1,341 - 3,117)	0,002	0,964	(0,470 - 1,979)	0,920	4,240	(2,656 - 6,767)	<0,001
Fibrilación auricular	2,258	(1,471 - 3,464)	0,001	0,980	(0,456 - 2,106)	0,959	4,202	(2,599 - 6,791)	<0,001
AAS	0,730	(0,459 - 1,160)	0,202	1,179	(0,575 - 2,419)	0,645	0,510	(0,295 - 0,881)	0,026
AntiP2Y12	0,798	(0,591 - 1,078)	0,147	0,966	(0,648 - 1,441)	0,866	0,770	(0,514 - 1,154)	0,212
Anticoagulantes	2,362	(1,501 - 3,716)	0,001	1,193	(0,556 - 2,562)	0,659	3,787	(2,250 - 6,375)	<0,001
Estatinas	0,576	(0,398 - 0,832)	0,006	0,549	(0,344 - 0,875)	0,018	0,629	(0,382 - 1,038)	0,084
Insulina	2,726	(1,775 - 4,186)	<0,001	2,827	(1,666 - 4,797)	0,001	3,442	(2,016 - 5,874)	<0,001
ADO	1,218	(0,851 - 1,743)	0,292	1,162	(0,730 - 1,848)	0,534	1,470	(0,924 - 2,337)	0,117
IECAS	0,753	(0,567 - 1,00)	0,050	0,636	(0,442 - 0,915)	0,015	1,039	(0,704 - 1,534)	0,847
ARAI	1,775	(1,277 - 2,466)	0,001	1,717	(1,122 - 2,628)	0,018	1,591	(1,007 - 2,513)	0,057
Antialdosterónicos	2,190	(1,404 - 3,417)	0,002	1,502	(0,785 - 2,873)	0,245	3,961	(2,405 - 6,525)	<0,001
Betabloqueantes	0,604	(0,447 - 0,816)	0,001	0,768	(0,513 - 1,149)	0,208	0,479	(0,323 - 0,712)	<0,001
Diltiazem	1,851	(0,979 - 3,500)	0,083	1,821	(0,800 - 4,141)	0,190	2,193	(1,017 - 4,729)	0,072
Verapamilo	2,802	(0,695 - 11,30)	0,215	2,293	(0,320 - 16,44)	0,467	2,483	(0,346 - 17,82)	0,431
Dihidropiridinas	1,797	(1,287 - 2,509)	0,001	2,068	(1,365 - 3,132)	0,001	1,652	(1,046 - 2,609)	0,040
Diuréticos	2,003	(1,470 - 2,729)	<0,001	1,241	(0,797 - 1,931)	0,349	3,566	(2,416 - 5,265)	<0,001
Digoxina	3,535	(0,877 - 14,25)	0,141				7,261	(1,787 - 29,51)	0,035
SCACEST vs SCASEST *	0,692	(0,514 - 0,931)	0,014	0,544	(0,366 - 0,809)	0,002	1,023	(0,692 - 1,511)	0,910
Número de vasos afectados *	1,225	(1,034 - 1,452)	0,021	1,404	(1,135 - 1,736)	0,002	1,185	(0,941 - 1,492)	0,152
Enfermedad de TCI *	1,450	(0,743 - 2,832)	0,303	0,699	(0,222 - 2,200)	0,517	2,291	(1,063 - 4,938)	0,059
Revascularización *	0,948	(0,642 - 1,400)	0,790	1,153	(0,670 - 1,984)	0,601	0,853	(0,513 - 1,418)	0,546
Revascularización completa*	0,567	(0,424 - 0,758)	<0,001	0,561	(0,388 - 0,811)	0,003	0,517	(0,348 - 0,769)	0,001
Tipo revascularización *			0,906			0,893			0,798
• Stent farmacoactivo	0,849	(0,587 - 1,229)		1,150	(0,694 - 1,907)		0,735	(0,451 - 1,198)	
• Stent convencional	0,836	(0,550 - 1,272)		0,910	(0,508 - 1,631)		0,766	(0,442 - 1,327)	
• Angioplastia balón	0,745	(0,266 - 2,082)		1,095	(0,325 - 3,690)		0,628	(0,148 - 2,668)	
• CABG	0,932	(0,467 - 1,862)		1,083	(0,434 - 2,698)		0,803	(0,307 - 2,099)	
Glucosa	1,005	(1,001 - 1,008)	0,013	1,005	(1,001 - 1,009)	0,019	1,004	(0,999 - 1,009)	0,110
HDL	1,007	(0,994 - 1,020)	0,280	1,001	(0,985 - 1,018)	0,898	1,015	(0,999 - 1,032)	0,080
LDL	1,004	(0,998 - 1,010)	0,167	1,008	(1,002 - 1,015)	0,016	0,996	(0,988 - 1,004)	0,376
No HDL	1,004	(1,00 - 1,009)	0,062	1,009	(1,004 - 1,013)	0,002	0,997	(0,991 - 1,004)	0,390
Triglicéridos	1,001	(0,999 - 1,002)	0,364	1,002	(1,00 - 1,003)	0,071	0,999	(0,997 - 1,002)	0,551
Creatinina	1,269	(1,115 - 1,443)	0,006	1,211	(0,998 - 1,47)	0,122	1,355	(1,173 - 1,567)	0,003
FGR	0,980	(0,972 - 0,987)	<0,001	0,991	(0,981 - 1,000)	0,048	0,963	(0,953 - 0,973)	<0,001
hsPCR	1,007	(0,995 - 1,019)	0,292	0,996	(0,975 - 1,018)	0,727	1,015	(1,003 - 1,027)	0,040
Fosforo	1,138	(0,875 - 1,481)	0,337	1,019	(0,725 - 1,432)	0,914	1,474	(1,038 - 2,094)	0,032
Calcidiol	0,971	(0,953 - 0,989)	0,001	0,974	(0,951 - 0,997)	0,025	0,972	(0,948 - 0,998)	0,027
Calcidiol categorías			0,018			0,237			0,078
• 10,01-20 ng/ml	0,721	(0,470 - 1,105)		0,827	(0,469 - 1,458)		0,733	(0,413 - 1,302)	
• 20,01-30 ng/ml	0,521	(0,327 - 0,830)		0,646	(0,352 - 1,187)		0,451	(0,236 - 0,861)	
• > 30 ng/ml	0,466	(0,251 - 0,866)		0,496	(0,217 - 1,133)		0,637	(0,292 - 1,389)	
FGF23	1,016	(1,011 - 1,022)	<0,001	1,001	(1,00 - 1,002)	0,082	1,022	(1,017 - 1,028)	<0,001
Klotho	0,925	(0,861 - 0,993)	0,017	0,999	(0,999 - 1,000)	0,174	0,866	(0,777 - 0,966)	0,004
PTH	1,099	(1,070 - 1,130)	<0,001	1,007	(1,003 - 1,011)	0,005	1,112	(1,080 - 1,145)	<0,001

**Tabla 5: Análisis Cox univariado para los tres eventos.** Objetivo principal (eventos isquémicos, IC o muerte).  
Abreviaturas como en tablas previas. \* último SCA.



Posteriormente se seleccionaron las variables en las que se vio significación estadística, además del sexo y la edad, para la realización de un análisis multivariado según el modelo de regresión de Cox. A modo de primer paso se realizaron estos análisis para el evento combinado de eventos isquémicos, IC y muerte, y posteriormente se realizó para los otros dos grupos de eventos (eventos isquémicos y combinado de IC-muerte) para identificar el tipo de eventos con los que se relacionaba.

En el análisis multivariado, FGF23 y PTH fueron predictores independientes del objetivo principal de eventos isquémicos, IC y muerte (Tabla 6). Cuando se analizaron los objetivos secundarios, observamos que ninguno de los componentes del metabolismo mineral estudiados se mostró asociado de manera independiente con la aparición de eventos isquémicos agudos (tabla 7). Sin embargo, para evento combinado de IC y muerte FGF23 y PTH sí se mantenían como indicadores pronósticos independientes (Tablas 8). Por esta razón, interpretamos que la significación encontrada en el objetivo principal para PTH y FGF23 se debía a su capacidad de predecir el objetivo de IC o muerte, y no el desarrollo de eventos isquémicos agudos. Por tanto, los siguientes análisis se centraron en el objetivo principal de eventos isquémicos, IC y muerte, y en el grupo combinado de IC y muerte. Para este último, se identificaron como factores de riesgo independientes la edad, disfunción ventricular, uso de diuréticos e insulina, y los niveles de PTH y de FGF23. Mientras que el uso de betabloqueantes se mostró como un factor protector independiente. Concretamente, se estimó un incremento de riesgo por cada unidad de FGF23 de 1,001 (1,001-1,002,  $p=0,001$ ) y de 1,006 (1,002-1,010,  $p=0,007$ ) para PTH. Sin embargo, mientras que los niveles de Klotho y vitamina D (calcidiol) sí presentaron significación estadística en el análisis univariado, no se mostraron como un factor protector independiente en el análisis multivariado. Del mismo modo, los niveles de fosfato y hsPCR, no se mostraron como factor de riesgo independiente.

VARIABLE	HR	(IC 95%)	p
Edad	1,037	(1,021 - 1,053)	<b>&lt;0,001</b>
Sexo	1,225	(0,851 - 1,764)	0,272
HTA	1,700	(1,141 - 2,531)	<b>0,006</b>
Dislipemia	1,381	(1,005 - 1,899)	<b>0,044</b>
Disfunción VI (FE<40)	1,622	(1,048 - 2,508)	<b>0,040</b>
Betabloqueantes	0,671	(0,488 - 0,922)	<b>0,016</b>
Insulina	2,120	(1,321 - 3,404)	<b>0,004</b>
FGR	0,996	(0,987 - 1,004)	0,322
FGF23	1,001	(1,000 - 1,002)	<b>0,009</b>
PTH	1,006	(1,003 - 1,010)	<b>0,001</b>

Tabla 6: Análisis Cox multivariado para el objetivo principal.

VARIABLE	HR	(IC 95%)	p
Edad	1,015	(0,996 - 1,034)	0,110
Sexo	0,824	(0,528 - 1,285)	0,397
FGR	0,999	(0,988 - 1,010)	0,886
Insulina	2,313	(1,337 - 4,003)	<b>0,006</b>
IECAS	0,678	(0,466 - 0,988)	<b>0,043</b>
Estatinas	0,591	(0,367 - 0,951)	<b>0,040</b>
Dihidropiridinas	1,841	(1,197 - 2,832)	<b>0,008</b>
No HDL	1,008	(1,003 - 1,014)	<b>0,003</b>
Nº vasos afectados	1,338	(1,079 - 1,660)	<b>0,009</b>

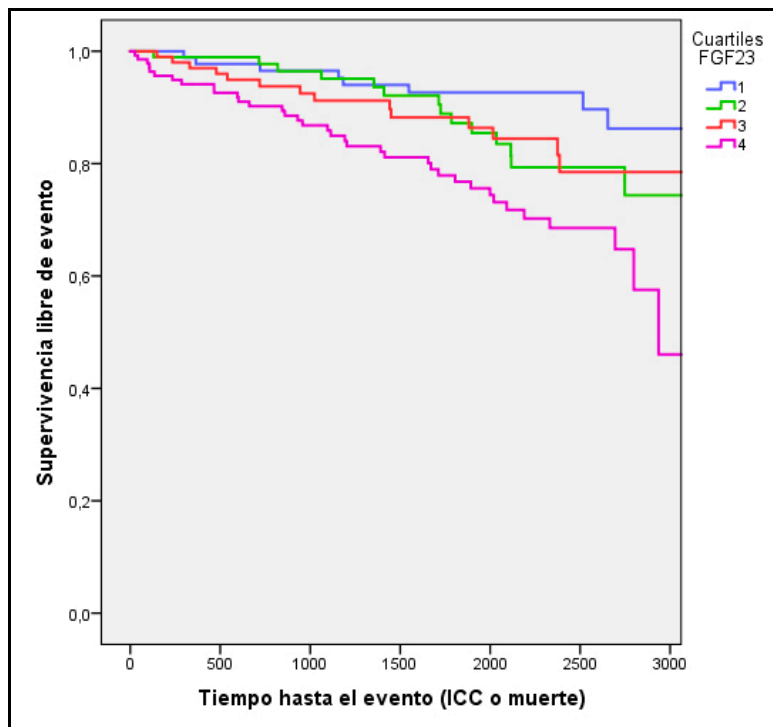
Tabla 7: Análisis Cox multivariado para los eventos isquémicos (SCA, ACV y AIT).

VARIABLE	HR	(IC 95%)	p
Edad	1,077	(1,053 - 1,102)	<b>&lt;0,001</b>
Sexo	1,430	(0,876 - 2,334)	0,148
FGR	0,989	(0,977 - 1,002)	0,090
FE < 40%	3,246	(2,014 - 5,231)	<b>&lt;0,001</b>
Betabloqueantes	0,642	(0,426 - 0,969)	<b>0,038</b>
Insulina	2,855	(1,543 - 5,283)	<b>0,002</b>
Diurético	1,709	(1,119 - 2,609)	<b>0,015</b>
FGF23	1,001	(1,001 - 1,002)	<b>0,001</b>
PTH	1,006	(1,002 - 1,010)	<b>0,007</b>

Tabla 8: Análisis Cox multivariado para el combinado IC y muerte.

En las curvas de Kaplan-Meier para el evento combinado de IC y muerte, se aprecia que el mejor pronóstico lo presentan aquellos pacientes que se encuentran en el cuartil más bajo en cuanto al nivel de FGF23 se refiere. Por el contrario, el peor pronóstico lo presentan los del cuartil más elevado. Los pacientes del segundo y tercer cuartil presentan

unas curvas bastante similares entre sí, siendo el riesgo intermedio entre los pacientes del primer y cuarto cuartil.



**Figura 20: Curva de Kaplan-Meier para el evento combinado IC y muerte según los cuartiles de FGF23** ( $p < 0,001$ , log rank test)

## 6 Comparación de las características de los pacientes con y sin IC/muerte

En la tabla 9 se presentan las características de los pacientes distribuidas según el desarrollo del objetivo combinado de IC o muerte y los que no. Entre ellas se aprecia que hay diferencia significativa en variables predecibles como HTA, DM, ACVA, cirugía de revascularización coronaria y enfermedad de TCI, disfunción ventricular, FA y revascularización completa, así como en el uso de tratamientos de probado beneficio como menor uso de doble antiagregación, estatinas o betabloqueantes en los pacientes que presentaron algún evento. Estos resultados no destacan por lo impredecible de los mismos,

sino por la consistencia que aportan al resto de resultados, aunque hay otras variables que llaman la atención, como el mayor uso de antialdosterónicos en pacientes con eventos, reflejando que probablemente se trata de pacientes con peor función ventricular e incluso episodios previos de IC. En cuanto a las alteraciones analíticas, los pacientes que presentaron el evento tenían peor función renal, niveles menores de calcidiol y Klotho, y mayores de FGF23 y PTH. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en los niveles de fósforo.

Variable	Sin evento	Con evento	p
Edad (años)	60,05 ± 11,70	72,07 ± 9,620	<b>&lt;0,001</b>
SEXO (Varón)	684 (77,3%)	70 (67,3%)	<b>0,032</b>
Raza caucásica	854 (96,5%)	104 (100%)	0,067
IMC (Kg/m²)	28,38 ± 4,172	29,19 ± 5,623	0,170
Tabaquismo	128 (14,5%)	6 (5,8%)	<b>0,022</b>
HTA	543 (62,8%)	86 (84,3%)	<b>&lt;0,001</b>
DM	201 (22,7%)	35 (33,7%)	<b>0,019</b>
Dislipemia	533 (60,2%)	61 (58,7%)	0,838
Arteriopatía periférica	31 (3,5%)	7 (6,7%)	0,108
ACVA	19 (2,1%)	8 (7,7%)	<b>0,005</b>
ICP previa	739 (83,5%)	81 (77,9%)	0,193
CABG previa	63 (7,1%)	14 (13,5%)	<b>0,037</b>
Disfunción VI (FE<40)	49 (5,7%)	23 (23,2%)	<b>&lt;0,001</b>
Fibrilación auricular	44 (5%)	21 (20,2%)	<b>&lt;0,001</b>
AAS	828 (93,7%)	89 (85,6%)	<b>0,005</b>
AntiP2Y12	667 (75,5%)	68 (65,4%)	<b>0,035</b>
Anticoagulantes	36 (4,1%)	17 (16,3%)	<b>&lt;0,001</b>
Estatinas	808 (91,4%)	85 (81,7%)	<b>0,003</b>
Insulina	49 (5,5%)	16 (15,4%)	<b>&lt;0,001</b>
ADO	145 (16,4%)	23 (22,1%)	0,184
IECAS	554 (62,7%)	59 (56,7%)	0,283
ARAI	125 (14,1%)	24 (23,1%)	<b>0,024</b>
Antialdosterónicos	49 (5,5%)	19 (18,3%)	<b>&lt;0,001</b>
Betabloqueantes	711 (80,4%)	64 (61,5%)	<b>&lt;0,001</b>
Diltiazem	19 (2,1%)	7 (6,7%)	<b>0,014</b>
Verapamil	2 (0,2%)	1 (1%)	0,284
Dihidropiridinas	109 (12,3%)	24 (23,1%)	<b>0,004</b>
Diuréticos	134 (15,2%)	44 (42,3%)	<b>&lt;0,001</b>
Digoxina	1 (0,1%)	2 (1,9%)	<b>0,031</b>
SCACEST *	442 (49,9%)	44 (42,3%)	0,171
Número de vasos afectados*			0,324
• 0	69 (8%)	7 (7,3%)	
• 1	482 (55,8%)	45 (46,9%)	
• 2	217 (25,1%)	30 (31,2%)	
• 3	96 (11,1%)	14 (14,6%)	
Enfermedad de TCI *	24 (2,7%)	7 (6,7%)	<b>0,036</b>
Revascularización *	778 (87,9%)	86 (82,7%)	0,174
Tipo revascularización *			0,182
• No revascularización	131 (14,8%)	25 (24%)	
• Stent farmacoactivo	464 (52,4%)	46 (44,2%)	
• Stent convencional	223 (25,2%)	26 (25%)	
• Angioplastia balón	26 (2,9%)	2 (1,9%)	
• CABG	41 (4,6%)	5 (4,8%)	
Revascularización completa*	642 (72,5%)	53 (51%)	<b>&lt;0,001</b>
Glucosa (mg/dl)	108,0 ± 30,33	114,3 ± 52,88	0,231
HDL (mg/dl)	41,73 ± 10,49	45,22 ± 12,96	<b>0,009</b>
LDL (mg/dl)	80,52 ± 24,76	81,15 ± 27,54	0,806
No HDL (mg/dl)	104,3 ± 30,03	105,9 ± 32,70	0,614
TG (mg/dl)	100 (76,0 - 142,0)	108,5 (80,0 - 147,8)	0,206
Creatinina (mg/dl)	1,00 (0,83 - 1,10)	1,085 (0,90 - 1,30)	<b>&lt;0,001</b>
FGR (ml/min/1,73m²)	68,03 ± 20,03	52,22 ± 19,62	<b>&lt;0,001</b>
hsPCR (mg/l)	1,078 (0,307 - 3,011)	2,277 (0,811 - 6,051)	<b>&lt;0,001</b>
Fosforo (mg/dl)	3,152 ± 0,533	3,284 ± 0,662	0,054
Calcidiol (ng/ml)	20,52 ± 8,576	18,24 ± 8,371	<b>0,010</b>
Calcidiol categorías			0,063
• ≤ 10 ng/ml	89 (10,1%)	15 (14,4%)	
• 10,01-20 ng/ml	379 (42,9%)	54 (51,9%)	
• 20,01-30 ng/ml	303 (34,3%)	24 (23,1%)	
• > 30 ng/ml	113 (12,8%)	11 (10,6%)	
FGF23 (RU/ml)	76,65 (58,60 - 99,70)	94,15 (70,12 - 166,5)	<b>&lt;0,001</b>
Klotho (pg/ml)	576,0 (475,1 - 696,6)	527,9 (432,8 - 610,8)	<b>0,004</b>
PTH (pg/ml)	57,10 (44,16 - 73,80)	72,88 (48,25 - 99,45)	<b>&lt;0,001</b>

**Tabla 9: Diferencias entre las variables estudiadas entre los pacientes que presentaron el evento combinado de IC y muerte y los que no lo presentaron.** Abreviaturas como en tablas previas. \* último SCA.

## **7 Influencia de los niveles de Klotho en el riesgo atribuible de PTH, calcidiol y FGF23.**

Para estudiar la posible influencia de los niveles de Klotho sobre el riesgo atribuible del resto de componentes del metabolismo mineral, se dividió a la población en dos grupos según la mediana de los niveles de Klotho (569 pg/ml) y se valoró nuevamente el riesgo del combinado muerte e IC.

En el análisis univariado (tabla 10), para la relación entre Klotho y calcidiol, se vio que la relación protectora entre los niveles de calcidiol y eventos que se apreciaba en la población completa no se encontraba en los pacientes con niveles de Klotho por debajo de la mediana (HR 0,991 (0,961-1,021)  $p=0,546$ ). Sin embargo, en los pacientes con niveles de Klotho por encima, esta relación protectora se hacía más evidente (HR 0,942 (0,899-0,987)  $p=0,008$ ), siendo la diferencia entre ambos grupos significativa ( $p=0,002$ ).

Para la relación entre Klotho y FGF23, el incremento de riesgo asociado a niveles altos de FGF23 se apreció en ambos grupos. Sin embargo, este riesgo es más marcado en los pacientes con niveles de Klotho por encima de la mediana, siendo también esta diferencia estadísticamente significativa [HR 1,018 (1,012-1,025)  $p < 0,001$  Vs HR 1,039 (1,023-1,055)  $p < 0,001$ ; ( $p 0,012$ )].

En el caso de la PTH, también se apreció incremento de riesgo en ambos grupos, pero al contrario que en el caso de FGF23, el riesgo era mayor en los pacientes con niveles de Klotho por debajo de la mediana [HR 1,138 (1,071-1,209)  $p < 0,001$  Vs HR 1,128 (1,082-1,176)  $p < 0,001$ ; ( $p 0,005$ )].

Variable	HR	KLOTHO<569 (IC 95%)	P	HR	KLOTHO>569 (IC 95%)	P	P
Edad	1,083	(1,057 - 1,109)	<b>&lt;0,001</b>	1,101	(1,065 - 1,138)	<b>&lt;0,001</b>	0,131
SEXO (Varón)	0,512	(0,309 - 0,848)	<b>0,012</b>	0,960	(0,466 - 1,976)	0,911	<b>0,005</b>
IMC	1,013	(0,957 - 1,073)	0,656	1,042	(0,965 - 1,125)	0,299	<b>0,023</b>
Tabaquismo	0,207	(0,051 - 0,848)	<b>0,004</b>	0,892	(0,316 - 2,515)	0,826	<b>0,004</b>
HTA	4,493	(2,045 - 9,870)	<b>&lt;0,001</b>	1,656	(0,779 - 3,522)	0,173	<b>0,001</b>
DM	1,618	(0,953 - 2,746)	0,085	1,853	(0,959 - 3,584)	0,076	<b>0,012</b>
Dislipemia	0,953	(0,581 - 1,563)	0,849	0,932	(0,489 - 1,774)	0,830	<b>0,014</b>
Arteriopatía periférica	2,388	(0,956 - 5,965)	0,097	1,221	(0,294 - 5,075)	0,790	<b>0,010</b>
ACVA	2,413	(0,967 - 6,022)	0,094	5,732	(1,760 - 18,67)	<b>0,021</b>	<b>0,015</b>
ICP previa	0,744	(0,411 - 1,346)	0,342	1,119	(0,512 - 2,445)	0,776	<b>0,010</b>
CABG previa	2,337	(1,221 - 4,476)	<b>0,020</b>	1,099	(0,338 - 3,574)	0,877	<b>0,008</b>
Disfunción VI (FE<40)	4,610	(2,491 - 8,534)	<b>&lt;0,001</b>	3,565	(1,681 - 7,564)	<b>0,003</b>	<b>0,010</b>
Fibrilación auricular	4,594	(2,570 - 8,211)	<b>&lt;0,001</b>	2,733	(1,066 - 7,006)	0,064	<b>0,014</b>
AAS	0,452	(0,230 - 0,889)	<b>0,036</b>	0,614	(0,239 - 1,573)	0,338	<b>0,011</b>
AntiP2Y12	0,908	(0,535 - 1,542)	0,723	0,625	(0,326 - 1,199)	0,166	<b>0,009</b>
Anticoagulantes	3,585	(1,948 - 6,596)	<b>&lt;0,001</b>	2,255	(0,693 - 7,336)	0,226	<b>0,029</b>
Estatinas	0,870	(0,452 - 1,675)	0,681	0,418	(0,191 - 0,913)	<b>0,045</b>	<b>0,007</b>
Insulina	4,233	(2,148 - 8,341)	<b>&lt;0,001</b>	2,863	(1,195 - 6,860)	<b>0,037</b>	<b>0,005</b>
ADO	1,281	(0,684 - 2,400)	0,452	1,648	(0,800 - 3,393)	0,194	<b>0,010</b>
IECAS	1,155	(0,701 - 1,905)	0,570	0,957	(0,505 - 1,813)	0,893	<b>0,011</b>
ARAI	1,159	(0,605 - 2,220)	0,662	2,247	(1,134 - 4,454)	<b>0,029</b>	<b>0,004</b>
Antialdosterónicos	3,905	(2,155 - 7,074)	<b>&lt;0,001</b>	2,727	(0,965 - 7,707)	0,096	<b>0,020</b>
Betabloqueantes	0,475	(0,285 - 0,794)	<b>0,007</b>	0,441	(0,232 - 0,836)	<b>0,015</b>	<b>0,006</b>
Diltiazem	4,017	(1,609 - 10,03)	<b>0,013</b>	1,117	(0,268 - 4,648)	0,882	<b>0,003</b>
Verapamilo	1,000	(1,000 - 1,000)	1,000	3,042	(0,416 - 22,24)	0,351	<b>0,003</b>
Dihidropiridinas	1,461	(0,808 - 2,645)	0,227	1,898	(0,920 - 3,916)	0,100	<b>0,012</b>
Diuréticos	4,304	(2,630 - 7,044)	<b>&lt;0,001</b>	2,475	(1,248 - 4,907)	<b>0,015</b>	<b>0,012</b>
Digoxina	11,520	(2,801 - 47,39)	<b>0,014</b>				
SCACEST vs SCASEST*	1,149	(0,702 - 1,882)	0,581	0,951	(0,491 - 1,843)	0,882	<b>0,012</b>
Número de vasos afectados*	1,170	(0,879 - 1,556)	0,286	1,106	(0,751 - 1,628)	0,611	<b>0,036</b>
Enfermedad de TCI*	2,345	(0,851 - 6,461)	0,143	2,327	(0,715 - 7,572)	0,211	<b>0,013</b>
Revascularización*	0,673	(0,352 - 1,289)	0,254	1,229	(0,512 - 2,945)	0,637	<b>0,008</b>
Revascularización completa*	0,503	(0,304 - 0,832)	<b>0,008</b>	0,587	(0,308 - 1,119)	0,112	0,052
Tipo revascularización*			0,260			0,430	<b>0,005</b>
• Stent farmacoactivo	0,650	(0,355 - 1,189)	0,260	0,915	(0,387 - 2,166)	0,430	
• Stent convencional	0,430	(0,205 - 0,898)	0,260	1,635	(0,676 - 3,953)	0,430	
• Angioplastia balón	0,882	(0,202 - 3,852)	0,260				
• CABG	0,588	(0,171 - 2,018)	0,260	1,226	(0,260 - 5,783)	0,430	
Glucosa	1,001	(0,993 - 1,009)	0,850	1,006	(1,000 - 1,012)	0,084	<b>0,008</b>
HDL	1,020	(1,002 - 1,039)	<b>0,040</b>	0,999	(0,968 - 1,030)	0,940	<b>0,009</b>
LDL	0,998	(0,988 - 1,008)	0,725	0,992	(0,978 - 1,006)	0,253	<b>0,011</b>
No HDL	0,999	(0,991 - 1,007)	0,740	0,993	(0,981 - 1,005)	0,211	<b>0,011</b>
Triglicéridos	0,999	(0,996 - 1,003)	0,620	0,998	(0,993 - 1,003)	0,472	<b>0,013</b>
Creatinina	1,290	(1,061 - 1,570)	0,057	1,455	(1,139 - 1,858)	<b>0,039</b>	<b>0,018</b>
FGR	0,971	(0,958 - 0,984)	<b>&lt;0,001</b>	0,956	(0,939 - 0,973)	<b>&lt;0,001</b>	0,054
hsPCR	1,013	(1,000 - 1,026)	0,105	1,013	(0,972 - 1,055)	0,589	<b>0,034</b>
Fosforo	1,672	(1,071 - 2,610)	<b>0,025</b>	1,136	(0,625 - 2,063)	0,677	<b>0,018</b>
Calcidiol	0,991	(0,961 - 1,021)	0,546	0,942	(0,899 - 0,987)	<b>0,008</b>	<b>0,002</b>
Calcidiol categorías			0,210			0,149	<b>0,014</b>
• 10,01-20 ng/ml	0,595	(0,290 - 1,219)	0,210	1,015	(0,384 - 2,683)	0,149	
• 20,01-30 ng/ml	0,433	(0,191 - 0,978)	0,210	0,568	(0,194 - 1,664)	0,149	
• > 30 ng/ml	0,789	(0,328 - 1,898)	0,210	0,221	(0,026 - 1,891)	0,149	
FGF23	1,018	(1,012 - 1,025)	<b>&lt;0,001</b>	1,039	(1,023 - 1,055)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,012</b>
Klotho	1,000	(0,997 - 1,002)	0,769	0,999	(0,997 - 1,001)	0,258	0,458
PTH	1,138	(1,071 - 1,209)	<b>&lt;0,001</b>	1,128	(1,082 - 1,176)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,005</b>

**Tabla 10: Análisis univariado de Cox dividiendo a los pacientes según el valor de Klotho.** La última columna corresponde a la p de la interacción. Si esta p es inferior a 0.05 podemos concluir que existe una heterogeneidad de efectos y que la relación entre la variable y el evento se ve modificada por el valor de Klotho. p 0.000 = p< 0.001. Abreviaturas como en tablas previas. \* último SCA.

En el análisis multivariado (tabla 11), FGF23 se mantuvo como predictor de riesgo independiente en ambos grupos. Sin embargo, mientras que la PTH sí mantenía el valor predictor en el grupo de niveles de Klotho por encima de la mediana, éste desaparecía en los pacientes con niveles por debajo de la misma. Por el contrario, ni el calcidiol ni el fosfato mostraron asociación independiente.

KLOTHO < 569			
Variable	HR	(IC 95%)	P
Edad	1,076	(1,045 - 1,108)	<b>&lt;0,001</b>
Sexo (varón)	1,108	(0,594 - 2,069)	0,747
FGR	0,994	(0,978 - 1,010)	0,441
Disfunción VI (FE<40)	4,293	(2,265 - 8,135)	<b>&lt;0,001</b>
Insulina	5,678	(2,429 - 13,28)	<b>&lt;0,001</b>
Diurético	2,202	(1,280 - 3,787)	<b>0,005</b>
HDL	1,033	(1,010 - 1,057)	<b>0,007</b>
FGF23	1,013	(1,004 - 1,021)	<b>0,008</b>
KLOTHO > 569			
Variable	HR	(IC 95%)	P
Edad	1,105	(1,062 - 1,149)	<b>&lt;0,001</b>
Sexo (varón)	2,799	(1,145 - 6,840)	<b>0,019</b>
FGR	0,994	(0,971 - 1,017)	0,594
Betabloqueantes	0,402	(0,203 - 0,796)	<b>0,010</b>
Glucosa	1,008	(1,003 - 1,014)	<b>0,013</b>
FGF23	1,035	(1,012 - 1,059)	<b>0,008</b>
PTH	1,098	(1,023 - 1,178)	<b>0,013</b>

Tabla 11: Análisis multivariado de Cox dividiendo a los pacientes según el valor de Klotho.

## 8 Valor pronóstico de las alteraciones del metabolismo mineral dependiendo de la función renal

Con el objetivo de ver si el valor pronóstico de las alteraciones del metabolismo mineral dependían de la función renal, se dividió a los pacientes en dos grupos según tuvieran función renal normal ( $FGR \geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ) o no, y se repitieron los análisis para el objetivo de IC o muerte. En el análisis univariado en los pacientes con función renal normal, de las variables del metabolismo mineral, solo alcanzaba significación estadística FGF23, mientras que en los pacientes con función renal alterada también lo



hacían la PTH y el calcidiol. Klotho no alcanzó significación estadística en ninguno de los dos grupos (tabla 12).

Variable	HR	FRG<60 (IC 95%)	P	HR	FGR≥60 (IC 95%)	P
Edad	1,085	(1,056 - 1,114)	<0,001	1,086	(1,052 - 1,121)	<0,001
Sexo (Varón)	1,917	(1,143 - 3,213)	0,014			NS
IMC			NS	1,079	(1,009 - 1,153)	0,26
HTA	2,091	(1,124 - 3,890)	0,02	3,050	(1,250 - 7,439)	0,014
DM	1,742	(1,076 - 2,818)	0,024			NS
ACVA	2,469	(1,069 - 5,7)	0,034	5,190	(1,231 - 21,881)	0,025
CABG previa			NS	4,758	(1,816 - 12,467)	0,002
Disfunción VI (FE<40)	4,818	(2,867 - 8,096)	<0,001			NS
Fibrilación auricular	4,076	(2,408 - 6,9)	<0,001			NS
Anticoagulantes	2,585	(1,417 - 4,718)	0,002	5,73	(1,994 - 16,465)	0,001
Insulina	3,308	(1,809 - 6,048)	<0,001			NS
Antialdosterónicos	3,651	(2,092 - 6,371)	<0,001			NS
Betabloqueantes	0,533	(0,329 - 0,863)	0,010	0,427	(0,208 - 0,88)	0,021
Diltiazem	2,778	(1,117 - 6,908)	0,028			NS
Diuréticos	3,354	(2,103 - 5,350)	<0,001	2,669	(1,251 - 5,691)	0,011
Digoxina	4,525	(1,106 - 18,518)	0,036			NS
Revascularización completa*	0,567	(0,357 - 0,9)	0,016			NS
HDL			NS	1,043	(1,016 - 1,069)	0,001
Creatinina	1,230	(1,021 - 1,481)	0,029			NS
FGR	0,953	(0,936 - 0,97)	<0,001			NS
Fosforo	1,74	(1,182 - 2,561)	0,005			NS
Calcidiol	0,964	(0,934 - 0,994)	0,021			NS
Calcidiol categorías	0,743	(0,557 - 0,990)	0,043			NS
• 10,01-20 ng/ml			NS			NS
• 20,01-30 ng/ml			NS			NS
• > 30 ng/ml			NS			NS
FGF23	1,212	(1,139 - 1,289)	<0,001	1,271	(1,085 - 1,489)	0,03
Klotho	--	--	NS	--	--	NS
PTH	1,009	(1,006 - 1,013)	<0,001			NS

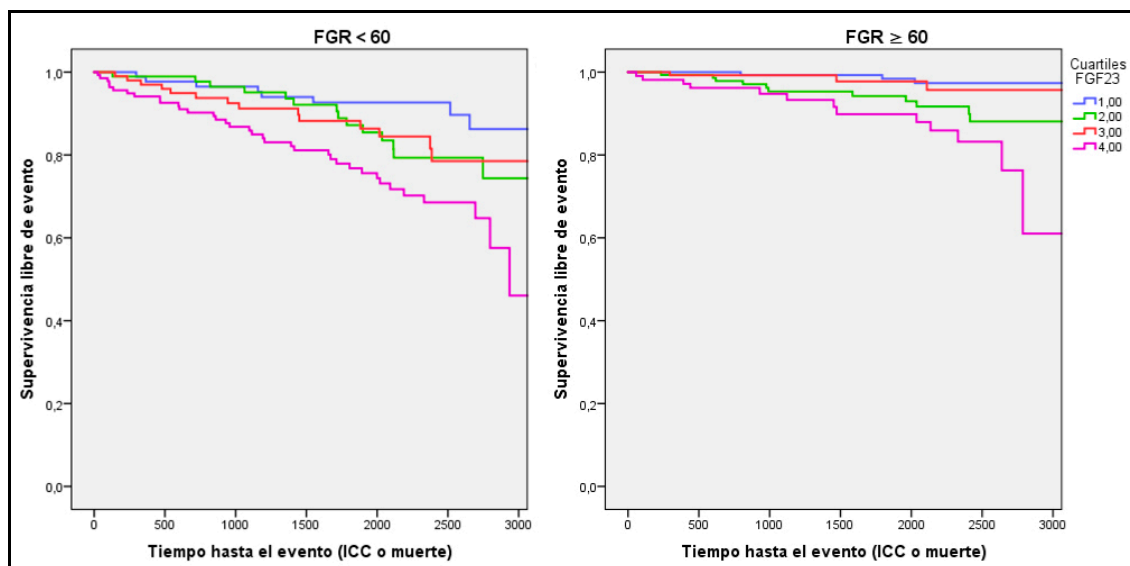
**Tabla 12: Análisis univariado de Cox dividiendo a los pacientes según la función renal.** Para simplificar la tabla solo se muestran los valores estadísticamente significativos y Klotho. NS: no significativo. Resto de abreviaturas como en tablas previas. \* último SCA

En el análisis multivariado (tabla 13), FGF23 se mantenía como factor predictor independiente de IC o muerte en ambos grupos. Sin embargo, PTH solo se mantuvo como factor predictor independiente en los pacientes con FGR <60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (HR = 1,008 [1,004 – 1,012] p<0,001), mientras que perdía su capacidad predictiva en pacientes con FGR ≥ 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Los niveles de calcidiol y fósforo no tuvieron valor pronóstico independiente en ninguno de los dos grupos.

Variable	HR	FGR < 60 (IC 95%)	P
Edad	1,073	(1,044 - 1,102)	<b>&lt;0,001</b>
Disfunción VI (FE<40)	4,548	(2,607 - 7,933)	<b>&lt;0,001</b>
Fibrilación auricular	2,290	(1,263 - 4,151)	<b>0,006</b>
Insulina	3,369	(1,682 - 6,745)	<b>0,001</b>
Antialdosterónicos	2,130	(1,163 - 3,903)	<b>0,014</b>
FGF23	1,116	(1,025 - 1,216)	<b>0,012</b>
PTH	1,008	(1,004 - 1,012)	<b>&lt;0,001</b>
Variable	HR	FGR ≥ 60 (IC 95%)	P
Edad	1,083	(1,044 - 1,123)	<b>&lt;0,001</b>
CABG	6,952	(2,516 - 19,212)	<b>&lt;0,001</b>
HDL	1,039	(1,007 - 1,072)	<b>0,016</b>
FGF23	1,272	(1,025 - 1,579)	<b>0,029</b>

**Tabla 13: Cox multivariado dividiendo a los pacientes según la función renal**

Finalmente, en las curvas de Kaplan-Meier de los pacientes con FGR <60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, si bien el riesgo de eventos es algo más llamativo para todos los cuartiles, se aprecia un comportamiento similar al que se aprecia en las curvas de todos los pacientes, con el primer y cuarto cuartil en los extremos de riesgo y el segundo y tercero entre medias. Sin embargo, en la curva de los pacientes con FGR ≥60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, mientras que los pacientes de los cuartiles primero, segundo y cuarto también muestran un comportamiento similar a los previos, con un riesgo algo menor que los pacientes con FGF<60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, los pacientes en el tercer cuartil presentan una curva muy similar a los del primer cuartil.



**Figura 21: Curvas de Kaplan-Meier para el evento combinado IC y muerte según los cuartiles de FGF23 en pacientes con y sin insuficiencia renal. ( $p=0,001$  para  $FGR < 60$  y  $<0,001$  para  $FGR \geq 60$ )**

## 9 Relación entre Klotho y la función renal

Dada la evidencia previa que sugiere que Klotho tiene un efecto nefroprotector quisimos explorar la relación entre la función renal y los niveles de Klotho. Los pacientes con función renal alterada ( $FGR < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ) tenían niveles de Klotho más bajos que los pacientes con función renal normal:  $535,1 \text{ pg/ml}$  ( $443,7 - 657,9$ ) Vs  $590,7 \text{ pg/ml}$  ( $496,5 - 719,2$ ),  $p < 0,001$ . Sin embargo, aunque existe correlación positiva significativa entre Klotho y el valor de FGR, ésta es muy débil ( $r=0,101$ ,  $p=0,01$ ).

# DISCUSIÓN

---

## 1 Capacidad pronóstica de los elementos del metabolismo mineral

Los diferentes componentes del metabolismo mineral son claves para la regulación del calcio y el fósforo. Cuando el filtrado glomerular renal comienza a descender, el riñón pierde de manera progresiva su capacidad para eliminar fósforo, cuyo acúmulo puede producir daño cardiovascular<sup>135</sup>. Para evitar esto se produce un aumento de la producción de FGF23, que es una hormona fosfatúrica, y que mantendrá los niveles de fosfato controlados mediante el aumento de la eliminación y los efectos sobre la producción de vitamina D. Sin embargo, se ha visto que FGF23 también puede producir daño cardiovascular, y además el incremento de FGF23 se acompaña de disminución de los niveles de vitamina D y, más tarde, aumento de PTH, y estas alteraciones también van a contribuir al daño cardiovascular.

Debido a su estrecha relación con el riñón, el metabolismo mineral ha estado muy relacionado con el campo de la Nefrología. Sin embargo, nuestro grupo, entre otros, ha demostrado que las alteraciones del metabolismo mineral se asocian a un peor pronóstico desde el punto de vista cardiovascular<sup>155,157,201</sup>. Es más, hemos visto que los pacientes coronarios presentan alta incidencia de alteraciones del metabolismo mineral incluso en ausencia de insuficiencia renal<sup>155,156</sup>. En el trabajo actual, nuevamente se ha puesto de manifiesto la alta incidencia de estas alteraciones que presentan los pacientes con cardiopatía isquémica estable, y que aunque son más frecuentes en los pacientes que tienen alterada la función renal, son también frecuentes en aquellos con función renal preservada.

En el presente estudio hemos querido ver el valor pronóstico de los diferentes componentes del metabolismo mineral, incluyendo Klotho, una proteína hidrosoluble que actúa como co-receptor de FGF23 y de la que poco se sabe acerca su relación con el riesgo cardiovascular. Esta proteína levantó una gran expectación inicial por el efecto antienvjecimiento que se le achacó por el fenotipo severamente envejecido con muerte prematura que se observó en ratones Klotho  $-/-$  y FGF23 $-/-$ . Posteriormente se vio que este efecto era secundario a la hiperfosfatemia producida por la ausencia del efecto fosfatúrico de FGF23 y Klotho que contrarreste el aumento de los niveles de vitamina D<sup>226-228</sup>. Por otro lado, previamente se vio un efecto cardioprotector de Klotho producido por la regulación de los canales de calcio y fosfato del músculo liso y la disminución de la calcificación vascular, sin embargo estudios de cohortes realizados en pacientes con IRC y en pacientes sometidos a coronariografía no mostraron asociación de Klotho con el riesgo cardiovascular<sup>252,253</sup>. De una manera similar, en nuestro estudio hemos observado que, aunque Klotho se asocia con un efecto protector frente al desarrollo de eventos cardiovasculares en el análisis univariado, y que los pacientes que presentaron el combinado de IC y muerte tuvieron niveles más bajos de Klotho que los que permanecieron estables, no hemos encontrado asociación independiente en cuanto al pronóstico en términos de mortalidad, eventos coronarios o episodios de IC, lo que iría en consonancia con estos estudios previos y apoya la idea de que el fenotipo observado en los ratones Klotho  $-/-$  no está directamente condicionado por la ausencia de Klotho.

Tampoco hemos encontrado asociación independiente de ninguno de los componentes de metabolismo mineral con la aparición de nuevos eventos isquémicos (SCA, ACV y AIT). En el caso de la vitamina D, se había descrito previamente una asociación inversa con la extensión de la calcificación vascular, la severidad de enfermedad coronaria, infarto de miocardio y la mortalidad cardiovascular<sup>148-153,157</sup>. En

nuestro estudio, de manera similar a lo observado con Klotho, aunque en el análisis univariado sí que se mostró como factor protector para los tres tipos de eventos estudiados, no se vio asociación independiente ni con los eventos isquémicos ni con ninguno de los otros dos eventos combinados estudiados. Una de las posibles explicaciones está en la interacción que puede haber entre los niveles de FGF23 y vitamina D en cuanto al pronóstico se refiere. En un trabajo previo, nuestro grupo describió que la asociación entre niveles bajos de vitamina D y eventos (eventos coronarios, cerebrovasculares, IC y muerte) se producía en aquellos pacientes con niveles elevados de FGF23, mientras que en los pacientes con niveles de FGF23 por debajo de la mediana esta asociación no se mantenía<sup>155</sup>. En el presente trabajo no hemos incluido dicha condición a la hora de analizar los resultados por lo que nuestros hallazgos pueden no apreciar el efecto de los niveles de vitamina D sobre el desarrollo de eventos.

En cuanto a la asociación entre el déficit de vitamina D y el desarrollo de IC, la evidencia previa es más controvertida. El déficit de vitamina D se ha asociado con HTA, HVI y disfunción ventricular en relación con la mayor activación del sistema renina angiotensina<sup>162</sup>. Además, en un pequeño estudio se observó una ligera mejoría de la fracción de eyección (FE) asociada al tratamiento con suplementos de vitamina D, aunque no alcanzó el objetivo primario de aumento de capacidad de esfuerzo de los pacientes. Paradójicamente, un trabajo previo de menor tamaño obtuvo resultados diferentes con mejoría de la capacidad de esfuerzo pero no de la FE<sup>163,258</sup>. Además, alguno de los estudios en los que se observó relación entre el déficit de vitamina D e IC se realizó en pacientes con preexistencia de IC<sup>259-261</sup>, con la consiguiente posibilidad de sesgo, y además esta relación no se ha observado en los estudios más recientes<sup>262-264</sup>. Por otro lado, los estudios realizados con suplementos o análogos de vitamina D no han podido demostrar disminución de la hipertrofia ventricular, los episodios de IC<sup>170,265,266</sup>, ni la mortalidad en

pacientes con IC y déficit de vitamina<sup>267</sup>. La falta de asociación con episodios de insuficiencia cardiaca evidenciada en nuestro trabajo va en consonancia con los estudios más recientes, pero parece necesaria la realización de nuevos estudios que aborden esta cuestión de una manera más específica y además tengan en consideración la posible influencia del resto de componentes del metabolismo mineral. En este sentido, estudios como el VITDAMI<sup>171</sup>, en el que se randomizan pacientes con IAM anterior a tratamiento con calcifediol o placebo para valorar los cambios en el remodelado ventricular, y que se encuentra actualmente en curso, pueden arrojar datos más claros acerca de esta cuestión.

Sin embargo, aunque también existe controversia en cuanto a la asociación los niveles de PTH con IC, en este caso la evidencia a favor de la relación causal es más clara. Existen receptores de PTH en los miocitos cardiacos cuya activación puede interferir con su normal contractilidad y producir efectos tróficos que aumenten la masa celular total induciendo el desarrollo de HVI<sup>140-143</sup>. Así, nuestro grupo ha descrito una asociación entre los niveles de PTH y la existencia de HVI en pacientes coronarios<sup>268</sup>. Este mecanismo aporta plausibilidad a la relación que se ha establecido en múltiples estudios, entre ellos un metaanálisis que incluyó 15 trabajos, entre los niveles de PTH, el desarrollo de HVI e IC<sup>262-264,269</sup>, y que sin embargo contrastan con otros estudios recientes en los que no se observó dicha relación<sup>270,271</sup>. Uno de los posibles condicionantes de estas diferencias está en la diferente edad media de los pacientes de los estudios, siendo los pacientes de los dos últimos estudios, ARIC<sup>271</sup> (56-57 años) y PREVEND<sup>270</sup> (49 años), más jóvenes que los del estudio MESA (62 años). Por otro lado, en el estudio MESA<sup>264</sup>, en el que sí se vio asociación entre PTH e IC, se realizó ajuste para otros componentes del metabolismo mineral como FGF23, del que se conoce su asociación con HVI e IC, sin que se produjera atenuación en los resultados de PTH. Las características de nuestro trabajo son similares a las del MESA, con una edad media de los pacientes de 61,3 años y valoración simultánea

de los otros componentes del metabolismo mineral, y nuestros resultados también los son y apoyan la posible relación causal entre los niveles elevados de PTH y el desarrollo posterior de IC. Sin embargo, faltan estudios que exploren el beneficio de terapias que reduzcan los niveles de PTH en cuanto al desarrollo de IC se refiere. En este sentido, en el previamente nombrado estudio PRIMO, se consiguió una reducción de los niveles de PTH en el grupo de paricalcitol sin beneficio clínico claro, aunque no estaba diseñado para la valoración de dicha asociación, por lo que hacen falta nuevos estudios que exploren dicha posibilidad.

FGF23 ha sido previamente asociado con HVI y mortalidad en pacientes con enfermedad renal<sup>188-195</sup>. Del mismo modo, en pacientes con cardiopatía isquémica estable y con un filtrado glomerular renal medio de 70 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, se ha visto asociación de los niveles de FGF23 con mortalidad y desarrollo de eventos cardiovasculares, fundamentalmente IC y eventos cerebrovasculares, pero no con IAM<sup>201</sup>. Se han implicado dos mecanismos diferentes por los que FGF23 puede contribuir al desarrollo de HVI e IC. Por un lado la activación de la vía de la calcineurina, y por el otro, el aumento de la reabsorción de sodio en túbulo distal renal<sup>195,202,205,206</sup>. Los resultados de nuestro estudio son concordantes con la evidencia previa, y muestran la misma asociación entre los niveles elevados de FGF23 y el objetivo combinado de IC y muerte, siendo FGF23 un predictor independiente de estos eventos. Por el contrario, no hemos encontrado asociación con los eventos isquémicos. Todos estos datos juntos demuestran la asociación de los niveles elevados de FGF23 con el desarrollo de IC pero no con eventos isquémicos, a pesar de ser una población de alto riesgo de desarrollar este tipo de eventos. Por tanto, idealmente, FGF23 debería complementarse con otro biomarcador que sea predictor de eventos isquémicos agudos para abarcar un aspecto más completo de eventos cardiovasculares.



## **2 Comparación de las características de los pacientes que presentaron eventos frente a los que permanecieron estables**

Los pacientes que desarrollaron los eventos (IC o muerte) en comparación con los que permanecieron estables eran más mayores, y entre ellos había mayor proporción de hipertensos, diabéticos, pacientes con disfunción ventricular y fibrilación auricular y, por el contrario, menos pacientes fueron revascularizados de manera completa. En cuanto a las alteraciones analíticas, presentaron menor filtrado glomerular, niveles menores de calcidiol y Klotho, y mayores de PTH y FGF23. A pesar de ello, aparte de PTH y FGF23, las únicas variables que se asociaron de manera independiente con el objetivo de IC y muerte fueron la edad, la disfunción ventricular y tratamiento con diuréticos (como probable marcador de peor función ventricular y episodios previos de IC) e insulina (como probable marcador de DM severa), y la terapia con betabloqueantes se mostró como un factor protector. Mientras que era esperable que estas variables se asociaran independientemente con IC o muerte, resulta muy interesante que los niveles de PTH y FGF23 aporten información adicional en este sentido. Por otro lado, a pesar de que los pacientes con eventos tenían peor filtrado glomerular, ni éste ni las cifras de creatinina fueron capaces de predecir la aparición de eventos adversos, lo que nuevamente resalta el valor de PTH y FGF23.

### 3 Influencia de Klotho sobre la capacidad pronóstica del resto de elementos

Como ya hemos comentado previamente, en el pasado nuestro grupo demostró asociación entre los diferentes componentes del metabolismo mineral, de manera que los niveles bajos de vitamina D y elevados de FGF23 eran un fuerte predictor del desarrollo de eventos cardiovasculares en pacientes coronarios<sup>155</sup>. De igual manera, otros grupos han confirmado el elevado riesgo de esta combinación en pacientes con enfermedad renal<sup>208</sup>. Por esta razón, en este estudio quisimos comprobar la influencia de los niveles de Klotho en la capacidad predictiva de los diferentes componentes de metabolismo mineral. Así pues, dividimos a los pacientes según la mediana de los niveles de Klotho y observamos que los niveles de Klotho influyen en la capacidad predictiva de todos los demás elementos del metabolismo mineral. Aun así, al repetir los análisis observamos nuevamente que sólo PTH y FGF23 se mantenían como predictores independientes. FGF23 se mantuvo como predictor de eventos en ambos grupos de Klotho, sin embargo, llama la atención que la intensidad del efecto de FGF23 es significativamente mayor en el grupo de pacientes por encima de la mediana. Como ya hemos visto previamente, se ha descrito que FGF23 produce HVI vía activación de la calcineurina, siendo éste un efecto independiente de Klotho<sup>195,202</sup>. Además recientemente, Adrukhova et al, observaron que FGF23 regula la cantidad y la actividad de cotransportadores  $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$  NCC en la membrana de las células del túbulo distal mediante una señalización que involucra el complejo FGF23/Klotho. Así mismo, apreciaron que la ganancia de función de FGF23 conllevaba un aumento de la abundancia de los canales NCC, así como de reabsorción de sodio en el túbulo distal y por tanto, expansión de volumen, HTA y HVI, y que lo hace de una manera dependiente de Klotho<sup>205,206</sup>. Por lo tanto, existen dos mecanismos, uno dependiente y otro independiente

de Klotho, por el cual FGF23 puede estar relacionado con el desarrollo de IC. Los resultados de nuestro trabajo sintonizan con los estudios previos al evidenciar que FGF23 está relacionado con el riesgo de presentar un evento de IC o muerte en ambos grupos, siendo éste mayor en los pacientes con los niveles de Klotho por encima de la mediana, y demuestra por primera vez la influencia de Klotho en la capacidad predictiva de otros componentes del metabolismo mineral. En cuanto a la PTH, su capacidad predictiva también se ve afectada por los niveles de Klotho, mostrándose como predictor independiente solo en el grupo de niveles de Klotho por encima de la mediana. De una manera similar, previamente se ha descrito que la asociación entre PTH y riesgo de desarrollar IC era mayor en los pacientes en el cuartil más alto de FGF23, aunque esa interacción no alcanzó la significación estadística<sup>264</sup>. Aunque en este trabajo no hemos estudiado esa posible asociación en concreto, ni otras, todos estos datos recalcan la necesidad de realizar nuevos estudios en los que se exploren las diferentes opciones, con el objetivo de encontrar la combinación o combinaciones que sean capaces de predecir de una manera más precisa el riesgo, ya que es posible que el origen de la discrepancia de datos pronósticos de los componentes del metabolismo mineral observados en los diferentes trabajos, radique, al menos en parte, en el análisis por separado de estos componentes en lugar de hacerlo como parte de un sistema común. En este sentido, nuevamente, estudios como el VITDAMI<sup>171</sup> probablemente sean capaces de aportar mayor información de las implicaciones pronósticas que tienen estas interacciones.

## **4 Influencia de de la función renal sobre la capacidad pronóstica del resto de elementos**

De una manera similar, hemos apreciado que la función renal también afecta al valor predictivo de los componentes del metabolismo mineral. Si bien solo PTH y FGF23 se mantuvieron como predictores independientes de riesgo, PTH perdía esta capacidad en los pacientes con función renal normal, mientras que FGF23 la mantenía en ambos grupos. Los resultados observados de FGF23 no sorprenden y concuerdan con la evidencia previa en la que se ha visto asociación de FGF23 con enfermedad cardiovascular o mortalidad en pacientes con IRC<sup>188–195</sup>, en pacientes con disfunción renal solamente ligera<sup>196–200</sup> y también en pacientes con filtrado glomerular normal<sup>201</sup>. En cuanto a los resultados de PTH, una de las posibles explicaciones para que su valor predictivo se mantenga solo en pacientes con función renal alterada está en la posible interacción pronóstica con FGF23 descrita previamente<sup>264</sup>, ya que existe evidencia que sugiere que la elevación de FGF23 es el evento inicial que lleva a la reducción de los niveles de vitamina D y elevación de la PTH en los pacientes con IRC<sup>183</sup>. De esta manera, con deterioro del filtrado glomerular los niveles de FGF23 aumentarían de manera progresiva y secundariamente descenderían los de vitamina D y aumentarían los de PTH, siendo en estos pacientes en los que existe aumento concomitante de los niveles de FGF23 donde el aumento de PTH tiene valor predictivo. En el mismo estudio en el que se evidenció la interacción no significativa en FGF23 y PTH, igualmente se apreció, aunque también de una manera no significativa, que el valor predictivo de PTH solo se daba en pacientes con FGR  $<60\text{ml/min/1,73m}^2$ . Por otro lado, en nuestro trabajo, ni Klotho, ni calcidiol ni el fósforo alcanzaron significación estadística en cuanto a la prevención de eventos en ninguno de los dos grupos de función renal.

## **5 Correlación entre los niveles de los elementos del metabolismo mineral**

Dada la regulación que ejercen unos elementos sobre los demás, como por ejemplo en el caso de la vitamina D y FGF23 o PTH y vitamina D, cabría pensar que sus niveles puedan estar relacionados entre sí. De hecho, existen algunos trabajos, realizados con grupos reducidos de pacientes y en patologías diferentes a la estudiada por nosotros, en los que se reportan correlaciones entre algunos de los componentes del metabolismo mineral<sup>272–276</sup>. Sin embargo, en este trabajo, con un tamaño muestral importante y realizado en pacientes con cardiopatía isquémica estable, demostramos que no es así, habiendo encontrado correlaciones muy bajas e incluso no significativa entre los distintos componentes del metabolismo mineral estudiados (calcidiol, PTH, FGF23 y Klotho).

## **6 Relación entre Klotho y función renal**

Previamente se ha achacado a Klotho un papel nefroprotector ya que se vio que el déficit de Klotho se asociaba con aumento la muerte celular renal y disminución de la capacidad de recuperación y regeneración<sup>218,234–236</sup>. En nuestro trabajo se ha visto que los pacientes con función renal alterada tienen niveles de Klotho menores que los pacientes que tienen la función renal normal. Sin embargo, la correlación entre los niveles de Klotho y el filtrado glomerular renal, aunque significativa, es muy débil y no es suficiente para confirmar el papel nefroprotector. Por tanto, se requiere de nuevos estudios dirigidos que exploren dicha posibilidad en mayor profundidad.

## 7 Limitaciones

Nuestro trabajo es una fuente importante de información ya que se trata de un estudio de casi mil pacientes con cardiopatía isquémica estable, en los que se ha realizado valoración simultánea de los diferentes componentes del metabolismo mineral y con un tiempo de seguimiento razonable. Aun así, tiene una serie de limitaciones que se deben de tener en cuenta a la hora de analizar los resultados:

- La más importante de todas es inherente al tipo de estudio, debida a la incapacidad para establecer una relación causal de los estudios observacionales.
- El tipo de población, mayormente de raza caucásica, con escasa representación de otros grupos étnicos, limita la posible extrapolación de nuestros hallazgos a otras poblaciones. Lo mismo ocurre con la edad de nuestros pacientes, que tienen una edad media de 61 años haciendo que los resultados puedan diferir de los obtenidos en poblaciones de otras edades.
- Además al ser un grupo de pacientes con enfermedad coronaria existe un riesgo que los resultados no sean extrapolables a población sana. Sin embargo, los resultados son similares a los del estudio MESA<sup>264</sup> que se realizó en pacientes sin enfermedad cardiovascular previa.
- Solo estudiamos una determinación de calcidiol, PTH, FGF23 y Klotho, y no se tuvo en cuenta la posible variación estacional de los mismos.

# CONCLUSIONES

---

1. Las alteraciones en los componentes del metabolismo mineral son muy frecuentes en los pacientes con cardiopatía isquémica estable. Estas alteraciones son aún más frecuentes entre aquellos que además tienen alterada la función renal.
2. Las alteraciones del metabolismo mineral se relacionan con el desarrollo del objetivo principal compuesto por eventos isquémicos agudos, IC o muerte en pacientes con cardiopatía isquémica estable. Esto se debía a su relación con el objetivo secundario compuesto por IC o muerte, ya que ningún componente del metabolismo mineral se ha relacionado con el desarrollo de eventos isquémicos agudos en este trabajo.
3. Los niveles de Klotho y de calcidiol eran más bajos en los pacientes que desarrollaban IC o muerte, mientras que los niveles de FGF23 y PTH eran más elevados. El nivel de fósforo no fue diferente en ambos grupos.
4. Los niveles elevados de PTH y FGF23 se relacionaron de manera independiente con el desarrollo de IC o muerte. Por el contrario, Klotho, calcidiol y fósforo solo se asociaron con el desarrollo de este evento en el análisis univariado, pero no en el multivariado.
5. Los niveles de Klotho modulan el valor pronóstico de otros componentes del metabolismo mineral en el desarrollo de IC o muerte, de manera que PTH solo se mantenía asociada a este objetivo en los pacientes con niveles de Klotho por encima de la mediana, pero no por debajo. FGF-23 sí era predictor independiente en ambos grupos.

6. El filtrado glomerular también modula la relación de los componentes del metabolismo mineral con el desarrollo de eventos, de modo que PTH solo era predictor independiente de IC o muerte en pacientes con  $\text{GFR} < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ , pero no en los que tenían 60 ó más. FGF-23 sí permaneció como marcador independiente en ambos grupos.
7. Las correlaciones entre los niveles plasmáticos de calcidiol, FGF23, PTH y Klotho son muy bajas e incluso en algunos casos no significativas, lo que sugiere que la correcta valoración del estado del metabolismo mineral requiere probablemente el estudio de varios de sus componentes.



# BIBLIOGRAFÍA

---

1. World Health Organization, WHO, World Health Organization, Pacific W, Action R. Global status report on noncommunicable diseases 2014. World Health. 2014;176.
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. PLoS Med. 2006;3(11):2011-30.
3. Defunciones según la Causa de Muerte 2014 [Internet]. Instituto Nacional de Estadística. Disponible en: <http://www.ine.es/dynt3/inebase/index.htm?type=pcaxis&path=/t15/p417/a2014/&file=pcaxis>
4. European Cardiovascular Disease Statistics 2012. European Heart Network, Brussels, European Society of Cardiology. Disponible en: [http://www.escardio.org/static\\_file/Escardio/Press-media/press-releases/2013/EU-cardiovascular-disease-statistics-2012.pdf](http://www.escardio.org/static_file/Escardio/Press-media/press-releases/2013/EU-cardiovascular-disease-statistics-2012.pdf)
5. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe: Epidemiological update. Eur Heart J. 2013;34(39):3028-34.
6. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics-2016 update: A Report from the American Heart Association. Circulation. 2016;133(4):447-54.
7. Mendis S, Puska P, Norrving B editors. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control. 2011; Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf)

8. Ferreira-González I. Epidemiología de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol*. 2014;67(2):139-44.
9. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, et al. Explaining the Decrease in U.S. Deaths from Coronary Disease, 1980–2000. *N Engl J Med* [Internet]. 2007;356(23):2388-98. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMsa053935>  
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMsa053935>  
<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMsa053935>
10. Stone GW, Grines CL, Cox DA, Garcia E, Tcheng JE, Griffin JJ, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* [Internet]. 2002;346(13):957-66. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11919304>
11. Cannon CP, Gibson CM, Lambrew CT, Shoultz D a, Levy D, French WJ, et al. Relationship of symptom-onset-to-balloon time and door-to-balloon time with mortality in patients undergoing angioplasty for acute myocardial infarction. *JAMA*. 2000;283(22):2941-7.
12. Van de Werf F, Adgey J, Ardissino D, Armstrong PW, Aylward P, Barbash G, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: The ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet*. 1999;354(9180):716-22.
13. GUSTO investigators. An International Randomized Trial Comparing Four Thrombolytic Strategies for Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med* [Internet]. 2 de septiembre de 1993;329(10):673-82. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8204123>

14. Steg PG, Goldberg RJ, Gore JM, Fox KAA, Eagle KA, Flather MD, et al. Baseline characteristics, management practices, and in-hospital outcomes of patients hospitalized with acute coronary syndromes in the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Am J Cardiol.* 2002;90(4):358-63.
15. Hasdai D, Behar S, Wallentin L, Danchin N, Gitt AK, Boersma E, et al. A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Europe and the Mediterranean basin: The Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J.* 2002;23(15):1190-201.
16. Puymirat E, Simon T, Steg PG, Schiele F, Guéret P, Blanchard D, et al. Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA* [Internet]. 12 de septiembre de 2012;308(10):998-1006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1001/2012.jama.11348>
17. Gil M, Martí H, Elosúa R, Grau M, Sala J, Masiá R, et al. Análisis de la tendencia en la letalidad, incidencia y mortalidad por infarto de miocardio en Girona entre 1990 y 1999. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60(4):349-56.
18. Ferreira-González I, Permanyer-Miralda G, Marrugat J, Heras M, Cuñat J, Civeira E, et al. Estudio MASCARA (Manejo del Síndrome Coronario Agudo. Registro Actualizado). Resultados globales. *Rev Española Cardiol* [Internet]. agosto de 2008;61(8):803-16. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300893208734924>
19. Barrabés JA, Bardají A, Jiménez-Candil J, del Nogal Sáez F, Bodí V, Basterra N,

- et al. Pronóstico y manejo del síndrome coronario agudo en España en 2012: estudio DIOCLES. *Rev Española Cardiol* [Internet]. 2015;68(2):98-106. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300893214002565>
20. Marrugat J, Elosua R, Martí H. Epidemiología de la cardiopatía isquémica en España: estimación del número de casos y de las tendencias entre 1997 y 2005. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55(4):337-46.
  21. World Heart Federation. Cardiovascular disease risk factors [Internet]. 2014. 2014. Disponible en: <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/cardiovascular-disease-risk-factors/>
  22. Westerman S, Engberding N, Wenger NK. Pathophysiology and lifetime risk factors for atherosclerosis and coronary artery disease in women and in the elderly. *Pathophysiol Pharmacother Cardiovasc Dis*. 2015;425-41.
  23. Dawber TR, Moore FE, Mann G V. Coronary Heart Disease in the Framingham Study. *Am J Public Health*. 1957;47(Supplement):4-23.
  24. Expert Panel on Detection, Evaluation and T of HBC in A. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* [Internet]. 16 de mayo de 2001;285(19):2486-97. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11368702>
  25. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the pooling project. The pooling project research group. *J Chronic Dis* [Internet]. abril de 1978;31(4):201-306. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/681498>

26. DAWBER TR, KANNEL WB, REVOTSKIE N, STOKES J, KAGAN A, GORDON T. Some factors associated with the development of coronary heart disease: six years' follow-up experience in the Framingham study. *Am J Public Health Nations Health* [Internet]. octobre de 1959;49(4):1349-56. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1372949&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
27. Yusuf PS, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanus F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937-52.
28. Pais P, Kamath DY, Sigamani A, Xavier D, Xavier D. Prevention of cardiovascular disease: The polypill concept. *Pathophysiol Pharmacother Cardiovasc Dis*. 2015;613-32.
29. World Health Organization. Hypertension [Internet]. Disponible en: [http://www.searo.who.int/entity/noncommunicable\\_diseases/media/non\\_communicable\\_diseases\\_hypertension\\_fs.pdf](http://www.searo.who.int/entity/noncommunicable_diseases/media/non_communicable_diseases_hypertension_fs.pdf)
30. World Heart Federation. Hypertension [Internet]. Disponible en: <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/cardiovascular-disease-risk-factors/hypertension>
31. Campbell N, Lackland D, Niebylski M. High Blood Pressure : Why Prevention and Control are Urgent and Important . A 2014 Fact Sheet from the World Hypertension League and the International Society of Hypertension Increased blood pressure is

- the leading risk factor for death and for disability. *Int Soc Hypertens*. 2014;(1):5.
32. World Heart Federation. Tobacco : totally avoidable risk factor of CVD [Internet]. World Health Organization, Media Center, Fact Sheet N 339. 2012. p. 2. Disponible en: [http://www.world-heart-federation.org/fileadmin/user\\_upload/documents/Fact\\_sheets/2012/Tobacco\\_avoidable\\_risk\\_factor\\_of\\_CVD.pdf](http://www.world-heart-federation.org/fileadmin/user_upload/documents/Fact_sheets/2012/Tobacco_avoidable_risk_factor_of_CVD.pdf)
  33. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control. The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General. *Centers Dis Control Prev*. 2006;
  34. Mayo P. An overview of diabetes. *Nurs Stand* [Internet]. 2016;30(46):53-63. Disponible en: <http://journals.rcni.com/doi/10.7748/ns.2016.e10386>
  35. Balakumar P, Arora MK, Ganti SS, Reddy J, Singh M. Recent advances in pharmacotherapy for diabetic nephropathy: Current perspectives and future directions. *Pharmacol Res*. 2009;60(1):24-32.
  36. World Health Organization, Tareque MI, Koshio A, Tiedt AD, Hasegawa T, Obirikorang Y, et al. Global Report on Diabetes [Internet]. Vol. 56, Current medical research and opinion. 2014. p. 1051-62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27457072><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4960830>[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf)
  37. World Health Federation. Quick Facts on Physical Inactivity [Internet]. 2016. Disponible en: <http://www.world-heart-federation.org/heart-facts/fact-sheets/cardiovascular-disease-risk-factors/quick-facts-on-physical-inactivity/>

38. World Heart Federation. Physical Inactivity [Internet]. Disponible en: <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/cardiovascular-disease-risk-factors/physical-inactivity/>
39. World Health Organization. Prevalence of insufficient physical activity [Internet]. Global Health Observatory. 2016. p. 4-5. Disponible en: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/physical\\_activity\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/physical_activity_text/en/)
40. World Health Organization. Physical activity [Internet]. Fact sheet. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs385/en/>
41. WHO World Health Organization. Obesity and Overweight [Internet]. 2011. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
42. World Heart Federation. Diet [Internet]. Disponible en: <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/cardiovascular-disease-risk-factors/diet/>
43. World Health Organization. Unhealthy diet [Internet]. Global Health Observatory (GHO) data. 2016. Disponible en: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/unhealthy\\_diet\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/unhealthy_diet_text/en/)
44. Balogun KA, Cheema SK. Cardioprotective Role of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Through the Regulation of Lipid Metabolism. *Pathophysiol Pharmacother Cardiovasc Dis* [Internet]. 2015;563-88. Disponible en: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-15961-4\\_27](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-15961-4_27)
45. Jernberg T, Hasvold P, Henriksson M, Hjelm H, Thuresson M, Janzon M. Cardiovascular risk in post-myocardial infarction patients: Nationwide real world data demonstrate the importance of a long-term perspective. *Eur Heart J*.

2015;36(19):1163-1170a.

46. Rapsomaniki D, Emmas, C. Chung, S. Pasea, L. Denaxas, S. Shah, AD. Pujades-Rodriguez, M. Timmis, A. Hemingway, H ES. Health outcomes in patients with stable coronary artery disease following myocardial infarction; construction of a PEGASUS-TIMI-54 like population in UK linked electronic health records. *Eur Heart J* [Internet]. 2013;35:363. Disponible en: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed12&NEWS=N&AN=71648085>
47. Abu-Assi E, López-López A, González-Salvado V, Redondo-Diéguez A, Peña-Gil C, Bouzas-Cruz N, et al. El riesgo de eventos cardiovasculares tras un evento coronario agudo persiste elevado a pesar de la revascularización, especialmente durante el primer año. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69(1):11-8.
48. Ibrahim MM, Damasceno A, WHO, WHO, Anselmi M, Avanzini F, et al. Hypertension in developing countries. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2012;380(9841):611-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22883510>
49. Perkovic V, Huxley R, Wu Y, Prabhakaran D, MacMahon S. The burden of blood pressure-related disease: A neglected priority for global health. *Hypertension*. 2007;50(6):991-7.
50. Kotseva K, Wood D, De Bacquer D, De Backer G, Rydén L, Jennings C, et al. EUROASPIRE IV: A European Society of Cardiology survey on the lifestyle, risk factor and therapeutic management of coronary patients from 24 European countries. *Eur J Prev Cardiol* [Internet]. abril de 2016;23(6):636-48. Disponible en:



<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2047487315569401>

51. Epstein FH. Atherosclerosis — An inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.
52. Kitta Y, Obata J, Nakamura T. Persistent Impairment of Endothelial Vasomotor Function Has a Negative Impact on Outcome in Patients With Coronary Artery Disease. *Jac* [Internet]. 2009;53(4):323-30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2008.08.074>
53. Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: Role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation*. 2002;106(24):3073-8.
54. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* [Internet]. noviembre de 1996;271(5 Pt 1):C1424-37. Disponible en: [http://www.researchgate.net/publication/14261905\\_Nitric\\_oxide\\_superoxide\\_and\\_peroxynitrite\\_the\\_good\\_the\\_bad\\_and\\_ugly/file/72e7e52726872d0f99.pdf](http://www.researchgate.net/publication/14261905_Nitric_oxide_superoxide_and_peroxynitrite_the_good_the_bad_and_ugly/file/72e7e52726872d0f99.pdf)
55. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest*. 1993;91(6):2546-51.
56. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* [Internet]. 1996;94(1):19-25. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8964113>
57. Dzau VJ. Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery

- disease. Eur Heart J [Internet]. septiembre de 1998;19 Suppl J:J2-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9796834>
58. Moro MÁ, Darley-USmar VM, Lizasoain I, Su Y, Knowles RG, Moncada S, et al. The formation of nitric oxide donors from peroxynitrite. Br J Pharmacol. 1995;116(3):1999-2004.
  59. Lefer DJ, Scalia R, Campbell B, Nossuli T, Hayward R, Salamon M, et al. Peroxynitrite Inhibits Leukocyte – Endothelial Cell Interactions and Protects Against Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. Society. 1997;99(4):684-91.
  60. Moro MA, Darley-USmar VM, Goodwin DA, Read NG, Zamora-Pino R, Feelisch M, et al. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1994;91(14):6702-6. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=44271&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  61. Liu S, Beckman JS, Ku DD. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. J Pharmacol Exp Ther. 1994;268(3):1114-21.
  62. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. Am J Physiol. 1995;268(5 Pt 1):L699-722.
  63. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. febrero de 1990;87(4):1620-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2154753>

64. Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett.* 1995;364(3):279-82.
65. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* [Internet]. 1994;74(6):1141-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8187280>
66. Rajagopalan S, Harrison DG. Reversing endothelial dysfunction with ACE inhibitors. A new trend. *Circulation* [Internet]. 1996;94(3):240-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8759059>
67. Skalén K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hultén LM, Wiklund O, Innerarity TL, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* [Internet]. 2002;417(6890):750-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12066187>
68. Leitinger N. Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2003;14(5):421-30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14501580>
69. Egido J, Tuñón J, López-Bescós L. Etiopatogenia y correlaciones clínicas de la aterotrombosis. En: *Aterotrombosis De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica*. 2004. p. 19-37.
70. McCall MR, van den Berg JJ, Kuypers FA, Tribble DL, Krauss RM, Knoff LJ, et al. Modification of LCAT activity and HDL structure. New links between cigarette smoke and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb* [Internet]. 1994;14(2):248-53. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8305416>

71. Sigurdsson G, Gudnason V, Sigurdsson G, Humphries SE. Interaction between a polymorphism of the apo A-I promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and apo A-I. *Arterioscler Thromb*. 1992;12:1017-22.
72. Fuster V, Ross R, Topol EJ. Diabetes and obesity. En: *Atherosclerosis and coronary artery disease*. 1996. p. 327-59.
73. Goldschmid MG, Barrett CE, Edelstein SL, Wingard DL, Cohn BA, Herman WH. Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes. *Circulation*. 1994;89(3):997.
74. Hurt-Camejo E, Olsson U, Wiklund O, Bondjers G, Camejo G. Cellular consequences of the association of apoB lipoproteins with proteoglycans. Potential contribution to atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 1997;17(6):1011-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9194748>
75. de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef a F. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:298-306.
76. Dai G, Kaazempur-Mofrad MR, Natarajan S, Zhang Y, Vaughn S, Blackman BR, et al. Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(41):14871-6.
77. Nakashima Y, Raines EW, Plump AS, Breslow JL, Ross R. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at Atherosclerosis-Prone Sites on the Endothelium in the ApoE-Deficient Mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;(18):842-51.

78. Shyy YJ, Hsieh HJ, Usami S, Chien S. Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemotactic protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1994;91(11):4678-82. Disponible en:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=43851&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  
79. Collins T. Endothelial nuclear factor- $\kappa$ B and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest*. 1993;68(5):499-508.
  
80. Xu X-P, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, et al. Oxidized Low-Density Lipoprotein Regulates Matrix Metalloproteinase-9 and Its Tissue Inhibitor in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Circulation* [Internet]. 1999;99(8):993-8. Disponible en:  
<http://circ.ahajournals.org/cgi/content/abstract/99/8/993>
  
81. Epstein FH, Barnes PJ, Karin M. Nuclear Factor- $\kappa$ B — A Pivotal Transcription Factor in Chronic Inflammatory Diseases. *N Engl J Med* [Internet]. 10 de abril de 1997;336(15):1066-71. Disponible en:  
<http://www.mendeley.com/import/?referrer=quickstart>
  
82. Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, Tuñón J, Ortega L, Pérez F, et al. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(7):2057-64.
  
83. Eriksson EE, Xie X, Werr J, Thoren P, Lindbom L. Importance of primary capture and L-selectin-dependent secondary capture in leukocyte accumulation in inflammation and atherosclerosis in vivo. *J Exp Med* [Internet]. 2001;194(2):205-

18. Disponible en:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11457895>  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2193449>
84. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* [Internet]. 1993;13(2):197-204. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7678986>
85. Cybulsky MI, Gimbrone MA. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* [Internet]. 1991;251(4995):788-91. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1990440>
86. Dong ZM, Brown A a., Wagner DD. Prominent Role of P-Selectin in the Development of Advanced Atherosclerosis in ApoE-Deficient Mice. *Circulation* [Internet]. 2000;101(19):2290-5. Disponible en:  
<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=10811597&retmode=ref&cmd=prlinks>  
<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.101.19.2290>
87. Johnson RC, Chapman SM, Dong ZM, Ordovas JM, Mayadas TN, Herz J, et al. Absence of P-selectin delays fatty streak formation in mice. *J Clin Invest*. 1997;99(5):1037-43.
88. Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, et al. Anti-monocyte chemoattractantprotein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* [Internet]. 19 de noviembre de 2002;106(21):2700-6. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12438296>

89. Neiken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest.* 1991;88(4):1121-7.
90. Cyrus T, Witztum JL, Rader DJ, Tangirala R, Fazio S, Linton MF, et al. Disruption of the 12/15-lipoxygenase gene diminishes atherosclerosis in apo E-deficient mice. *J Clin Invest.* 1999;103(11):1597-604.
91. Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, Arnao V, Pinto A, Licata G. Atherosclerosis as an Inflammatory Disease. *Curr Pharm Des.* 2012;(18):4266-88.
92. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *ProcNatlAcadSciUSA.* 92(18):8264-8.
93. Peiser L, Mukhopadhyay S, Gordon S. Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol.* 2002;14:123-8.
94. Janeway Charles A J, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:197-216.
95. Witztum JL. You are right too! *J Clin Invest.* 2005;115(8):2072-5.
96. Haka AS, Grosheva I, Chiang E, Buxbaum AR, Baird BA, Pierini LM, et al. Macrophages Create an Acidic Extracellular Hydrolytic Compartment to Digest Aggregated Lipoproteins. *Mol Biol Cell* [Internet]. 2009;20(23):4932-40. Disponible en: <http://www.molbiolcell.org/cgi/doi/10.1091/mbc.E09-07-0559>
97. Kunjathoor V V., Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, et al.

- Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem.* 2002;277(51):49982-8.
98. Katsuda S, Boyd HC, Fligner C, Ross R, Gown AM. Human atherosclerosis. III. Immunocytochemical analysis of the cell composition of lesions of young adults. *Am J Pathol* [Internet]. 1992;140(4):907-14. Disponible en: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=1562051&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/FB7CF372-64A0-44A5-A2A3-4BFF0C6B1B2E>
  99. Schwartz CJ CA. Coronary atherosclerotic disease: pathological background. En: *Syndromes of Atherosclerosis.* 1996. p. 17-32.
  100. Feil S, Hofmann F, Feil R. SM22 $\alpha$  Modulates Vascular Smooth Muscle Cell Phenotype During Atherogenesis. *Circ Res* [Internet]. 2004;94(7):863-5. Disponible en: <http://circres.ahajournals.org/cgi/content/abstract/94/7/863>
  101. Campbell JH, Campbell GR. Smooth muscle phenotypic modulation-a personal experience. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(8):1784-9.
  102. Aikawa M, Kim HS, Kuro-o M, Manabe I, Watanabe M, Yamaguchi H, et al. Phenotypic modulation of smooth muscle cells during progression of human atherosclerosis as determined by altered expression of myosin heavy chain isoforms. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1995;748:578-85. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7695208>
  103. Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*



2008;28(5):812-9.

104. Kolodgie FD, Burke AP, Nakazawa G, Virmani R. Is Pathologic Intimal Thickening the Key to Understanding Early Plaque Progression in Human Atherosclerotic Disease ? 2007;986-90.
105. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res.* 2014;114(12):1852-66.
106. Stary HC. The development of calcium deposits in atherosclerotic lesions and their persistence after lipid regression. *Am J Cardiol* [Internet]. 2001;88(2A):16E-19E. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11473739>
107. Otsuka F, Sakakura K, Yahagi K, Joner M, Virmani R. Has our understanding of calcification in human coronary atherosclerosis progressed? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(4):724-36.
108. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* [Internet]. 1995;92(5):1355-74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7648691>
109. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB, et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* [Internet]. 1994;145(4):883-94. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1887321&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

110. Kumamoto M, Nakashima Y, Sueishi K. Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: Its origin and pathophysiological significance. *Hum Pathol*. 1995;26(4):450-6.
111. Sluimer JC, Kolodgie FD, Bijnens APJJ, Maxfield K, Pacheco E, Kutys B, et al. Thin-Walled Microvessels in Human Coronary Atherosclerotic Plaques Show Incomplete Endothelial Junctions. Relevance of Compromised Structural Integrity for Intraplaque Microvascular Leakage. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(17):1517-27.
112. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med*. 2003;349(24):2316-25.
113. Davies MJ, Thomas A. Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med* [Internet]. 1984;310(18):1137-40. Disponible en:  
  
<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=6709008&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/doi/10.1056/NEJM198405033101801>
114. Raitakari OT, Juonala M. Cardiovascular Risk Factors in Childhood and Carotid Artery Intima-Media Thickness in Adulthood: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. Library (Lond). 2008;
115. Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart* [Internet]. marzo de 2000;83(3):361-6. Disponible en:  
  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10677422>
116. Falk E, Shah PK, Fuster V, Affiliations A. Coronary Plaque Disruption. *Circulation*

- [Internet]. 1995;92(3):657-71. Disponible en:  
<http://circ.ahajournals.org/content/92/3/657.short%5Cnhttp://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.92.3.657>
117. Falk E, Nakano M, Bentzon JF, Finn A V., Virmani R. Update on acute coronary syndromes: The pathologists' view. *Eur Heart J*. 2013;34(10):719-28.
  118. Kubo T, Imanishi T, Takarada S, Kuroi A, Ueno S, Yamano T, et al. Assessment of Culprit Lesion Morphology in Acute Myocardial Infarction. Ability of Optical Coherence Tomography Compared With Intravascular Ultrasound and Coronary Angioscopy. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(10):933-9.
  119. Virmani R, Kolodgie FD, Burke a P, Farb a, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(5):1262-75.
  120. van der Wal a C, Becker a E, van der Loos CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation*. 1994;89(1):36-44.
  121. Kolodgie FD, Burke a P, Farb A, Gold HK, Yuan J, Narula J, et al. The thin-cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque: the major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* [Internet]. 2001;16(5):285-92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11584167>
  122. Kadoglou NP, Liapis CD. Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis, surveillance and treatment of abdominal aortic aneurysms. *Curr Med Res Opin*. 2004;20(4).

123. Alvarez B, Ruiz C, Chaín P, Alvarez-Sabin J, Matas M. Serum values of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 as related to unstable plaque and inflammatory cells in patients with greater than 70% carotid artery stenosis. *J Vasc Surg.* 2004;40(3):469-75.
124. Eldrup N, Grønholdt M-LM, Sillesen H, Nordestgaard BG. Elevated matrix metalloproteinase-9 associated with stroke or cardiovascular death in patients with carotid stenosis. *Circulation* [Internet]. 2006;114(17):1847-54. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030690>
125. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in Atherosclerosis. From Pathophysiology to Practice. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(23):2129-38.
126. Halim SA, Newby LK. Prognostic biomarkers in individuals with prevalent coronary heart disease. *Dis Markers.* 2009;26(5-6):265-71.
127. Gough PJ, Gomez IG, Wille PT, Raines EW. Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2006;116(1):59-69.
128. Fernández-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, Fuster V, Meyer B, Mailhac A, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: Implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol.* 1994;23(7):1562-9.
129. Rautou PE, Vion AC, Amabile N, Chironi G, Simon A, Tedgui A, et al. Microparticles, vascular function, and atherothrombosis. *Circ Res.* 2011;109(5):593-606.

130. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, et al. Healed Plaque Ruptures and Sudden Coronary Death : Evidence That Subclinical Rupture Has a Role in Plaque Progression. *Circulation* [Internet]. 2001;103(7):934-40. Disponible en: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/abstract/103/7/934%5Cnhttp://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/103/7/934>
131. Mann J, Davies MJ. Mechanisms of progression in native coronary artery disease: role of healed plaque disruption. *Heart*. 1999;82(3):265-8.
132. Davies MJ, Bland JM, Hangartner JR, Angelini A, Thomas AC. Factors influencing the presence or absence of acute coronary artery thrombi in sudden ischaemic death. *Eur Heart J* [Internet]. 1989;10(3):203-8. Disponible en: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=2707268&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/048E956E-4A52-4D09-800D-869B5D536C10>
133. McNamara CA, Sarembock IJ, Gimple LW, Fenton JW, Coughlin SR, Owens GK. Thrombin stimulates proliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells by a proteolytically activated receptor. *J Clin Invest*. 1993;91(1):94-8.
134. Bruschke AVG, Kramer JR, Bal ET, Haque IU, Detrano RC, Goormastic M. The dynamics of progression of coronary atherosclerosis studied in 168 medically treated patients who underwent coronary arteriography three times. *Am Heart J*. 1989;117(2):296-305.
135. Gonzalez-Parra E, Tuñón J, Egido J, Ortiz A. Phosphate: A stealthier killer than previously thought? *Cardiovasc Pathol* [Internet]. 2012;21(5):372-81. Disponible

en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carpath.2012.02.008>

136. Samadfam R, Richard C, Nguyen-Yamamoto L, Bolivar I, Goltzman D. Bone formation regulates circulating concentrations of fibroblast growth factor 23. *Endocrinology*. 2009;150(11):4835-45.
137. de Groot T, Lee K, Langeslag M, Xi Q, Jalink K, Bindels RJM, et al. Parathyroid hormone activates TRPV5 via PKA-dependent phosphorylation. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2009;20(8):1693-704. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2723979&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
138. Jones G. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*. 1998;78:1193-231.
139. Zaruba M-M, Huber BC, Brunner S, Deindl E, David R, Fischer R, et al. Parathyroid hormone treatment after myocardial infarction promotes cardiac repair by enhanced neovascularization and cell survival. *Cardiovasc Res* [Internet]. 1 de marzo de 2008;77(4):722-31. Disponible en: [http://sfx.dnlib.dk/sfx\\_local?sid=SP:MEDS;genre=article;atitle=Parathyroid hormone treatment after myocardial infarction promotes cardiac repair by enhanced neovascularization and cell survival.;title=Cardiovascular-research;isbn=;issn=0008-6363;date=2008;](http://sfx.dnlib.dk/sfx_local?sid=SP:MEDS;genre=article;atitle=Parathyroid hormone treatment after myocardial infarction promotes cardiac repair by enhanced neovascularization and cell survival.;title=Cardiovascular-research;isbn=;issn=0008-6363;date=2008;)
140. Schlüter KD, Piper HM. Trophic effects of catecholamines and parathyroid hormone on adult ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol*. 1992;263(6 Pt 2):H1739-46.
141. Tastan I, Schreckenber R, Mufti S, Abdallah Y, Piper HM, Schlüter KD. Parathyroid hormone improves contractile performance of adult rat ventricular

- cardiomyocytes at low concentrations in a non-acute way. *Cardiovasc Res*. 2009;82(1):77-83.
142. Potthoff SA, Janus A, Hoch H, Frahnert M, Tossios P, Reber D, et al. PTH-receptors regulate norepinephrine release in human heart and kidney. *Regul Pept*. 2011;171(1-3):35-42.
  143. Monego G, Arena V, Pasquini S, Stigliano E, Fiaccavento R, Leone O, et al. Ischemic injury activates PTHrP and PTH1R expression in human ventricular cardiomyocytes. *Basic Res Cardiol*. 2009;104(4):427-34.
  144. Maalouf NM. The Non-Calciotropic Actions of Vitamin D: Recent Clinical Developments. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2008;17(4):408-15.
  145. Bar-Shavit Z, Noff D, Edelstein S, Meyer M, Shibolet S, Goldman R. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and the regulation of macrophage function. *CalcifTissue Int*. 1981;33(6):673-6.
  146. Ströder J, Kasal P. Evaluation of phagocytosis in rickets. *Acta Paediatr Scand* [Internet]. mayo de 1970 [citado 8 de diciembre de 2016];59(3):288-92. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1651-2227.1970.tb09005.x>
  147. Agoston ES, Hatcher MA, Kensler TW, Posner GH. Vitamin D analogs as anti-carcinogenic agents. *Anticancer Agents Med Chem* [Internet]. enero de 2006;6(1):53-71. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16475927>
  148. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, et al. Active Serum Vitamin D Levels Are Inversely Correlated With Coronary Calcification . *Circ* [Internet]. 1997;96(6):1755-60. Disponible en:

<http://circ.ahajournals.org/content/96/6/1755.abstract>

149. Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R. Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol* [Internet]. septiembre de 1990;19(3):559-63. Disponible en: <http://ije.oxfordjournals.org/content/19/3/559.abstract>
150. Syal SK, Kapoor A, Bhatia E, Sinha A, Kumar S, Tewari S, et al. Vitamin D deficiency, coronary artery disease, and endothelial dysfunction: observations from a coronary angiographic study in Indian patients. *J Invasive Cardiol* [Internet]. agosto de 2012;24(8):385-9. Disponible en: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=2012484557>
151. Andrukhova O, Slavic S, Zeitz U, Riesen SC, Heppelmann MS, Ambrisko TD, et al. Vitamin D is a regulator of endothelial nitric oxide synthase and arterial stiffness in mice. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2014;28(1):53-64. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24284821>
152. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H. Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med (Baltim)* [Internet]. 51(3-4):228-33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20600257>
153. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U. Independent Association of Low Serum 25-Hydroxyvitamin D and 1,25-Dihydroxyvitamin D Levels with All-Cause and Cardiovascular Mortality. 2008;168(12):1340-9.
154. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin



- D insufficiency into perspective. *Br J Nutr* [Internet]. 2005;94(4):483-92. Disponible en: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0007114505002060%5Cnhttps://www.uni-hohenheim.de/uploads/media/Sonderdruck\\_BJN1544.pdf](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114505002060%5Cnhttps://www.uni-hohenheim.de/uploads/media/Sonderdruck_BJN1544.pdf)
155. Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casaus ML, Huelmos A, et al. Coexistence of low vitamin D and high fibroblast growth factor-23 plasma levels predicts an adverse outcome in patients with coronary artery disease. Pizzi C, editor. *PLoS One* [Internet]. 18 de abril de 2014;9(4):e95402. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0095402>
  156. González-Parra E, Aceña Á, Lorenzo Ó, Tarín N, González-Casaus ML, Cristóbal C, et al. Important abnormalities of bone mineral metabolism are present in patients with coronary artery disease with a mild decrease of the estimated glomerular filtration rate. *J Bone Miner Metab*. 2015;
  157. Brondum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Ischemic Heart Disease, Myocardial Infarction, and Early Death: Population-Based Study and Meta-Analyses of 18 and 17 Studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2012;32(11):2794-802. Disponible en: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med1&AN=22936341%5Cnhttp://resolver.ebscohost.com/openurl?issn=10795642&Volume=32&issue=11&spage=2794&title=25-hydroxyvitamin+d+levels+and+risk+of+ischemic+heart+disease%2C+myocardial+infarction>
  158. Zhou C, Lu F, Cao K, Xu D, Goltzman D, Miao D. Calcium-independent and

- 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-dependent regulation of the renin-angiotensin system in 1alpha-hydroxylase knockout mice. *Kidney Int* [Internet]. 2008;74(2):170-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18385669>
159. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest*. 2002;110(2):229-38.
  160. Larsen T, Mose FH, Bech JN, Hansen AB, Pedersen EB. Effect of cholecalciferol supplementation during winter months in patients with hypertension: a randomized, placebo-controlled trial. *Am J Hypertens* [Internet]. 2012;25(11):1215-22. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mnh&AN=22854639&site=ehost-live&scope=site>
  161. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M. Impact of oral vitamin D (cholecalciferol) replacement therapy on blood pressure in type 2 diabetes patients; a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. *J Nephropathol* [Internet]. 2014;3(1):29-33. Disponible en: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84895951879&partnerID=tZOtx3y1>
  162. Choi JH, Ke Q, Bae S, Lee JY, Kim YJ, Kim UK, et al. Doxercalciferol, a pro-hormone of vitamin D, prevents the development of cardiac hypertrophy in rats. *J Card Fail*. 2011;17(12):1051-8.
  163. Witte KK, Byrom R, Gierula J, Paton MF, Jamil HA, Lowry JE, et al. Effects of Vitamin D on Cardiac Function in Patients With Chronic HF. *J Am Coll Cardiol*

[Internet]. junio de 2016 [citado 25 de mayo de 2017];67(22):2593-603. Disponible en:

[http://www.onlinejacc.org/content/67/22/2593?sso=1&sso\\_redirect\\_count=1&access\\_token=](http://www.onlinejacc.org/content/67/22/2593?sso=1&sso_redirect_count=1&access_token=)

164. Teng M, Wolf M, Lowrie E, Ofsthun N, Lazarus JM, Thadhani R. Survival of Patients Undergoing Hemodialysis with Paricalcitol or Calcitriol Therapy. *N Engl J Med* [Internet]. 2003;349(5):446-56. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa022536>
165. Kong J, Kim GH, Wei M, Sun T, Li G, Liu SQ, et al. Therapeutic effects of vitamin D analogs on cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Am J Pathol*. 2010;177(2):622-31.
166. Bodyak N, Ayus JC, Achinger S, Shivalingappa V, Ke Q, Chen Y-S, et al. Activated vitamin D attenuates left ventricular abnormalities induced by dietary sodium in Dahl salt-sensitive animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2007;104(43):16810-5. Disponible en: [http://www.pnas.org.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/content/104/43/16810.abstract?ikey=bd5ae7bdf3a390693549217badd590a7fb4661c4&keytype2=tf\\_ipsecsha](http://www.pnas.org.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/content/104/43/16810.abstract?ikey=bd5ae7bdf3a390693549217badd590a7fb4661c4&keytype2=tf_ipsecsha)
167. Bae S, Yalamarti B, Ke Q, Choudhury S, Yu H, Karumanchi SA, et al. Preventing progression of cardiac hypertrophy and development of heart failure by paricalcitol therapy in rats. *Cardiovasc Res*. 2011;91(4):632-9.
168. Guerrero F, Montes De Oca A, Aguilera-Tejero E, Zafra R, Rodríguez M, López I. The effect of vitamin D derivatives on vascular calcification associated with inflammation. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(6):2206-12.

169. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E, Perez J, Guerrero F, Martin D, et al. The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int* [Internet]. 2008;73(3):300-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18004298>
170. Thadhani RI, Appelbaum E, Pritchett Y, Chang Y, Wenger J, Tamez H, et al. Vitamin d therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: The primo randomized controlled trial. *Jama* [Internet]. 2012;307(7):674-84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2012.120%5Cnhttp://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1104984>
171. Tuñón J, González-Hernández I, Llanos-Jiménez L, Alonso-Martín J, Escudier-Villa JM, Tarín N, et al. Design and rationale of a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the effect of vitamin D on ventricular remodelling in patients with anterior myocardial infarction: the VITamin D in Acute Myocardial Infarction. *BMJ Open* [Internet]. 5 de agosto de 2016;6(8):e011287. Disponible en: <http://bmjopen.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmjopen-2016-011287>
172. Araya K, Fukumoto S, Backenroth R, Takeuchi Y, Nakayama K, Ito N, et al. A novel mutation in fibroblast growth factor 23 gene as a cause of tumoral calcinosis. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2005;90:5523-7. Disponible en: [internal-pdf://59.2.239.159/Araya et al CliEndocMet05.pdf%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16030159](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16030159)
173. Goetz R, Beenken A, Ibrahimi OA, Kalinina J, Olsen SK, Eliseenkova A V, et al. Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast

- growth factor 19 subfamily members. *Mol Cell Biol* [Internet]. 2007;27(9):3417-28. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1899957&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
174. Inoue Y, Segawa H, Kaneko I, Yamanaka S, Kusano K, Kawakami E, et al. Role of the vitamin D receptor in FGF23 action on phosphate metabolism. *Biochem J* [Internet]. 2005;390(Pt 1):325-31. Disponible en: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15885032](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15885032)
  175. Kuro-o M. Klotho and  $\beta$ Klotho. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2012;728:25-40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22396160>
  176. Liu S. Fibroblast Growth Factor 23 Is a Counter-Regulatory Phosphaturic Hormone for Vitamin D. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2006;17(5):1305-15. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16597685>
  177. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev* [Internet]. 2012;92(1):131-55. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3306265&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  178. Richter M, Lautze HJ, Walther T, Braun T, Kostin S, Kubin T. The failing heart is a major source of circulating FGF23 via oncostatin M receptor activation. *J Hear Lung Transplant*. 2015;34(9):1211-4.
  179. Richter M. Oncostatin M Induces FGF23 Expression in Cardiomyocytes. *J Clin Exp Cardiol* [Internet]. 2013;1(S9). Disponible en: <http://www.omicsonline.org/2155->

180. Quarles LD. The bone and beyond: «Dem bones» are made for more than walking. Nat Med [Internet]. abril de 2011;17(4):428-30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nm0411-428>
181. Weber TJ, Liu S, Indridason OS, Quarles LD, Al WET. Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis. J Bone Miner Res [Internet]. 2003;18(7):1227-34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12854832>
182. Imanishi Y, Inaba M, Nakatsuka K, Nagasue K, Okuno S, Yoshihara A, et al. FGF-23 in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. Kidney Int. 2004;65(5):1943-6.
183. Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Shah A, Holmes J, Collerone G, et al. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. J Am Soc Nephrol [Internet]. 2005;16(7):2205-15. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/16/7/2205.abstract>
184. Fliser D, Kollerits B, Neyer U, Ankerst DP, Lhotta K, Lingenhel A, et al. Fibroblast Growth Factor 23 ( FGF23 ) Predicts Progression of Chronic Kidney Disease : The Mild to Moderate Kidney Disease ( MMKD ) Study. 2007;23:1-8.
185. Jean G, Bresson E, Terrat J, Vanel T, Hurot J, Lorriaux C, et al. Peripheral vascular calcification in long-haemodialysis patients : associated factors and survival consequences. Survival (Lond). 2009;(October 2008):948-55.
186. Hsu HJ, Wu M-S. Fibroblast growth factor 23: a possible cause of left ventricular

- hypertrophy in hemodialysis patients. *Am J Med Sci* [Internet]. 2009;337(2):116-22.  
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19214027>
187. Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(9):1427-35.
  188. Seeherunvong W, Abitbol C, Chandar J, Rusconi P, Zilleruelo G, Freundlich M. Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in children on dialysis. *Pediatr Nephrol* [Internet]. 2012;27(11):2129-2136 8p. Disponible en: <http://ezproxy.acu.edu.au/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ccm&AN=104421523&site=ehost-live>
  189. Kirkpantur A, Balci M, Gurbuz OA, Afsar B, Canbakan B, Akdemir R, et al. Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(4):1346-54.
  190. Kendrick J, Cheung AK, Kaufman JS, Greene T, Roberts WL, Smits G, et al. FGF-23 Associates with Death, Cardiovascular Events, and Initiation of Chronic Dialysis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011;22(10):1913-22. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/22/10/1913.abstract>
  191. Isakova T. Fibroblast Growth Factor 23 and Risks of Mortality and End-Stage Renal Disease in Patients With Chronic Kidney Disease. *Jama* [Internet]. 2011;305(23):2432. Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2011.826>
  192. Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, Shah A, et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Mortality among Patients Undergoing

Hemodialysis. 2008;6.

193. Seiler S, Reichart B, Roth D, Seibert E, Fliser D, Heine GH. FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(12):3983-9.
194. Gutierrez OM, Januzzi JL, Isakova T, Laliberte K, Smith K, Collierone G, et al. Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation* [Internet]. 2009;119(19):2545-52. Disponible en: <https://www.oapublishinglondon.com/article/481>
195. Faul C, Amaral AP, Oskoue B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4393-408.
196. Wohlfahrt P, Melenovsky V, Kotrc M, Benes J, Jabor A, Franekova J, et al. Association of Fibroblast Growth Factor-23 Levels and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition in Chronic Systolic Heart Failure. *JACC Hear Fail*. 2015;3(10):829-39.
197. Imazu M, Takahama H, Asanuma H, Funada A, Sugano Y, Ohara T, et al. Pathophysiological impact of serum fibroblast growth factor 23 in patients with nonischemic cardiac disease and early chronic kidney disease. *Am J Physiol Hear Circ Physiol*. 2014;307(10):H1504-11.
198. Shibata K, Fujita S ichi, Morita H, Okamoto Y, Sohmiya K, Hoshiga M, et al. Association between Circulating Fibroblast Growth Factor 23,  $\alpha$ -Klotho, and the Left Ventricular Ejection Fraction and Left Ventricular Mass in Cardiology Inpatients. *PLoS One*. 2013;8(9).



199. Isakova T, Houston J, Santacruz L, Schiavenato E, Somarriba G, Harmon WG, et al. Associations between fibroblast growth factor 23 and cardiac characteristics in pediatric heart failure. *Pediatr Nephrol* [Internet]. octubre de 2013;28(10):2035-42. Disponible en: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L52618901%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1007/s00467-013-2515-7%5Cnhttp://sfx.umd.edu/hs?sid=EMBASE&issn=0931041X&id=doi:10.1007%2Fs00467-013-2515-7&atitle=Associations+between+fibroblast+g>
200. Seiler S, Cremers B, Rebling NM, Hornof F, Jeken J, Kersting S, et al. The phosphatonin fibroblast growth factor 23 links calciumphosphate metabolism with left-ventricular dysfunction and atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2011;32(21):2688-96.
201. Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Christenson RH, Vermeer C, Ketteler M, et al. The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: The heart and soul study. *Ann Intern Med*. 2010;152(10):640-8.
202. Leifheit-Nestler M, Große Siemer R, Flasbart K, Richter B, Kirchhoff F, Ziegler WH, et al. Induction of cardiac FGF23/FGFR4 expression is associated with left ventricular hypertrophy in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2016;31(7):1088-99. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26681731>
203. Freundlich M, Li YC, Quiroz Y, Bravo Y, Seeherunvong W, Faul C, et al. Paricalcitol downregulates myocardial renin-angiotensin and fibroblast growth factor expression and attenuates cardiac hypertrophy in uremic rats. *Am J*

- Hypertens. 2014;27(5):720-6.
204. Grabner A, Amaral AP, Schramm K, Singh S, Sloan A, Yanucil C, et al. Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metab* [Internet]. 2015;1(22 (6)):1020-32. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1550413115004593>
  205. Andrukhova O, Smorodchenko A, Egerbacher M, Streicher C, Zeitz U, Goetz R, et al. FGF23 promotes renal calcium reabsorption through the TRPV5 channel. *EMBO J*. 2014;33(3):229-46.
  206. Andrukhova O, Slavic S, Smorodchenko A, Zeitz U, Shalhoub V, Lanske B, et al. FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO Mol Med*. 2014;6(6):744-59.
  207. Scialla JJ, Xie H, Rahman M, Anderson AH, Isakova T, Ojo A, et al. Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular events in CKD. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2014;25(2):349-60. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24158986>
  208. Nakano C, Hamano T, Fujii N, Matsui I, Tomida K, Mikami S, et al. Combined use of vitamin D status and FGF23 for risk stratification of renal outcome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(5):810-9.
  209. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Renal and Extrarenal Actions of Klotho. *Semin Nephrol* [Internet]. marzo de 2013;33(2):118-29. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22802580>
  210. Xu Y, Sun Z. Molecular basis of klotho: From gene to function in aging. *Endocr Rev*. 2015;36(2):174-93.

211. Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-iida T, Nagai R, Kuro-o M, Nabeshima Y. Identification of the Human Klotho Gene and Its Two Transcripts Encoding Membrane and Secreted Klotho Protein 1. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;630(242):626-30.
212. Andrukhova O, Zeitze U, Goetz R, Mohammadi M, Lanske B, Erben RG. FGF23 acts directly on renal proximal tubules to induce phosphaturia through activation of the ERK1/2-SGK1 signaling pathway. *Bone.* 2012;51(3):621-8.
213. Hu MC, Shi M, Zhang J, Pastor J, Nakatani T, Lanske B, et al. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J* [Internet]. 2010;24(9):3438-50. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2923354&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
214. Shiraki-Iida T, Aizawa H, Matsumura Y, Sekine S, Iida A, Anazawa H, et al. Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein. *FEBS Lett.* 1998;424(1-2):6-10.
215. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature.* 1997;390(6655):45-51.
216. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature* [Internet]. 7 de diciembre de 2006 [citado 27 de noviembre de 2016];444(7120):770-4. Disponible en: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature05315>

217. Imura A, Tsuji Y, Murata M, Maeda R, Kubota K, Iwano A, et al. alpha-Klotho as a regulator of calcium homeostasis. *Science* [Internet]. 15 de junio de 2007 [citado 21 de octubre de 2016];316(5831):1615-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17569864>
218. Liu F, Wu S, Ren H, Gu J. Klotho suppresses RIG-I-mediated senescence-associated inflammation. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2011;13(3):254-62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/ncb2167%5Cnpapers2://publication/doi/10.1038/ncb2167>
219. German DC, Khobahy I, Pastor J, Kuro-o M, Liu X. Nuclear localization of Klotho in brain: An anti-aging protein. *Neurobiol Aging*. 2012;33(7).
220. Kurosu H. Suppression of aging in mice by the hormone klotho. *Age (Omaha)*. 2007;29(2-3):105.
221. Sitara D, Razzaque MS, Hesse M, Yoganathan S, Taguchi T, Erben RG, et al. Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis, and reverses hypophosphatemia in Phex-deficient mice. *Matrix Biol*. 2004;23(7):421-32.
222. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, Fujita T, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest*. 2004;113(4):561-8.
223. Ohnishi M, Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *FASEB J*. 2010;24(9):3562-71.
224. Takeda E, Yamamoto H, Nashiki K, Sato T, Arai H, Taketani Y. Inorganic

- phosphate homeostasis and the role of dietary phosphorus. 2004;8(2):191-200.
225. Morishita K, Shirai a, Kubota M, Katakura Y, Nabeshima Y, Takeshige K, et al. The progression of aging in klotho mutant mice can be modified by dietary phosphorus and zinc. *J Nutr*. 2001;131(12):3182-8.
  226. Kuro-o M. Klotho, phosphate and FGF-23 in ageing and disturbed mineral metabolism. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2013;9(11):650-60. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23774819>
  227. Ohnishi M, Nakatani T, Lanske B, Razzaque MS. In vivo genetic evidence for suppressing vascular and soft tissue calcification through the reduction of serum phosphate levels, even in the presence of high serum calcium and 1,25-dihydroxyvitamin-D levels. *Circ Cardiovasc Genet* [Internet]. 2009;CIRCGENETICS.108.847814. Disponible en: <http://circgenetics.ahajournals.org/cgi/content/abstract/CIRCGENETICS.108.847814v1%5Cnhttp://circgenetics.ahajournals.org/cgi/content/abstract/CIRCGENETICS.108.847814v1?papetoc>
  228. Stubbs JR, Liu S, Tang W, Zhou J, Wang Y, Yao X, et al. Role of hyperphosphatemia and 1,25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in fibroblastic growth factor 23 null mice. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2007;18(7):2116-24. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/18/7/2116.abstract%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17554146>
  229. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J Biol Chem*

- [Internet]. 10 de marzo de 2006 [citado 27 de noviembre de 2016];281(10):6120-3.  
Disponible en: <http://www.jbc.org/cgi/content/short/281/10/6120>
230. Farrow EG, Summers LJ, Schiavi SC, McCormick JA, Ellison DH, White KE. Altered renal FGF23-mediated activity involving MAPK and Wnt: Effects of the Hyp mutation. *J Endocrinol*. 2010;207(1):67-75.
  231. White KE, Econs MJ. Chapter 23. Fibroblast Growth Factor-23. *Prim Metab Bone Dis Disord Miner Metab* [Internet]. :112-6. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470623992.ch23>
  232. Nabeshima Y, Y TBT, Graduate T. Mediation of Unusually High Concentrations of  $1, 25$ - Dihydroxyvitamin D in Homozygous klotho Mutant Mice by Increased Expression of Renal  $1, 25$ -Hydroxylase Gene. 2002;143(2):683-9.
  233. Chang Q, Hoefs S, van der Kemp AW, Topala CN, Bindels RJ, Hoenderop JG. The  $\beta$ -Glucuronidase Klotho Hydrolyzes and Activates the TRPV5 Channel. *Science* (80- ). 2005;310(5747).
  234. Dmitrieva NI, Burg MB. High NaCl promotes cellular senescence. *Cell Cycle*. 2007;6(24):3108-13.
  235. Nakano-Kurimoto R, Ikeda K, Uraoka M, Nakagawa Y, Yutaka K, Koide M, et al. Replicative senescence of vascular smooth muscle cells enhances the calcification through initiating the osteoblastic transition. *Am J Physiol Hear Circ Physiol*. 2009;297:1673-84.
  236. Haruna Y, Kashihara N, Satoh M, Tomita N, Namikoshi T, Sasaki T, et al. Amelioration of progressive renal injury by genetic manipulation of Klotho gene.

- Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2007;104(7):2331-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17287345>  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1892974>  
<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0611079104>
237. Olauson H, Lindberg K, Amin R, Sato T, Jia T, Goetz R, et al. Parathyroid-Specific Deletion of Klotho Unravels a Novel Calcineurin-Dependent FGF23 Signaling Pathway That Regulates PTH Secretion. *PLoS Genet*. 2013;9(12).
  238. Murali SK, Roschger P, Zeitz U, Klaushofer K, Andrukhova O, Erben RG. FGF23 Regulates Bone Mineralization in a 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and Klotho-Independent Manner. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2015;25:n/a-n/a. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.2606>
  239. Masso A, Sanchez A, Gimenez-Llort L, Lizcano JM, Canete M, Garcia B, et al. Secreted and Transmembrane alphaKlotho Isoforms Have Different Spatio-Temporal Profiles in the Brain during Aging and Alzheimer's Disease Progression. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143623.
  240. Dubal DB, Zhu L, Sanchez PE, Worden K, Broestl L, Johnson E, et al. Life Extension Factor Klotho Prevents Mortality and Enhances Cognition in hAPP Transgenic Mice. *J Neurosci* [Internet]. 2015;35(6):2358-71. Disponible en: <http://www.jneurosci.org/content/35/6/2358>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25673831>
  241. Dubal DB, Yokoyama JS, Zhu L, Broestl L, Worden K, Wang D, et al. Life Extension Factor Klotho Enhances Cognition. *Cell Rep*. 2014;7(4):1065-76.
  242. Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, Crouthamel MH, et al.

- Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int.* 2013;83(6):1159-68.
243. Lindberg K, Olauson H, Amin R, Ponnusamy A, Goetz R, Taylor RF, et al. Arterial Klotho Expression and FGF23 Effects on Vascular Calcification and Function. *PLoS One.* 2013;8(4).
  244. Mirza MAI, Larsson A, Melhus H, Lind L, Larsson TE. Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis.* 2009;207(2):546-51.
  245. Xie J, Cha S-K, An S-W, Kuro-O M, Birnbaumer L, Huang C-L. Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nat Commun* [Internet]. 2012;3(May):1238. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3526952&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  246. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quinones H, Griffith C, Kuro-o M, et al. Klotho Deficiency Causes Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1 de enero de 2011;22(1):124-36. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18094365>
  247. Lim K, Lu TS, Molostvov G, Lee C, Lam FT, Zehnder D, et al. Vascular klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation.* 2012;125(18):2243-55.
  248. Ikushima M, Rakugi H, Ishikawa K, Maekawa Y, Yamamoto K, Ohta J, et al. Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(3):827-32.



249. Nakatani T, Sarraj B, Ohnishi M, Densmore MJ, Taguchi T, Goetz R, et al. In vivo genetic evidence for klotho-dependent, fibroblast growth factor 23 (Fgf23) - mediated regulation of systemic phosphate homeostasis. *FASEB J.* 2009;23(2):433-41.
250. Ichikawa S, Imel EA, Kreiter ML, Yu X, Mackenzie DS, Sorenson AH, et al. A homozygous missense mutation in human KLOTHO causes severe tumoral calcinosis. *J Clin Invest.* 2007;117(9):2684-91.
251. Hofman-Bang J, Martuseviciene G, Santini M a, Olgaard K, Lewin E. Increased parathyroid expression of klotho in uremic rats. *Kidney Int* [Internet]. 2010;78(11):1119-27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.215>
252. Seiler S, Rogacev KS, Roth HJ, Shafein P, Emrich I, Neuhaus S, et al. Associations of FGF-23 and sklotho with cardiovascular outcomes among patients with CKD stages 2???4. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(6):1049-58.
253. Brandenburg VM, Kleber ME, Vervloet MG, Larsson TE, Tomaschitz A, Pilz S, et al. Soluble klotho and mortality: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis.* 2015;242(2):483-9.
254. Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Lundqvist CB, Borger MA, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2012;33(20):2569-619.
255. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment

- Elevation of. *Eur Heart J* [Internet]. 14 de enero de 2016;37(3):267-315. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26320110>
256. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*. 2016.
  257. Holick MF. Vitamin D and sunlight: strategies for cancer prevention and other health benefits. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. septiembre de 2008;3(5):1548-54. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18550652>
  258. Scarlini S, Turrini F, Roli L, Mussi C, Bertolotti M, Trenti T, et al. Effects of cholecalciferol supplementation in patients with low vitamin d levels and chronic heart failure (a randomized double blind controlled trial). *Eur J Heart Fail* [Internet]. 2013;12(suppl 1):S147. Disponible en: [http://eurheartj.oxfordjournals.org.ezproxy.library.wur.nl/content/34/suppl\\_1/P3328%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed11&AN=71080430%5Cnhttp://202.115.54.14:3210/scu?sid=OVID:embase&id=pmid:&id=doi:10.1093/eurjhf/](http://eurheartj.oxfordjournals.org.ezproxy.library.wur.nl/content/34/suppl_1/P3328%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed11&AN=71080430%5Cnhttp://202.115.54.14:3210/scu?sid=OVID:embase&id=pmid:&id=doi:10.1093/eurjhf/)
  259. Pilz S, Marz W, Wellnitz B, Seelhorst U. Association of vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *J* [Internet]. 2008; Disponible en: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jc.2008-0784>
  260. Sugimoto T, Tanigawa T, Onishi K, Fujimoto N, Matsuda A, Nakamori S, et al. Serum intact parathyroid hormone levels predict hospitalisation for heart failure. *Heart* [Internet]. 2009;95(5):395-8. Disponible en:

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=19001003](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19001003)

261. Zittermann A, Schleithoff SS, Frisch S, Götting C, Kuhn J, Koertke H, et al. Circulating calcitriol concentrations and total mortality. *Clin Chem*. 2009;55(6):1163-70.
262. Kestenbaum B, Katz R, De Boer I, Hoofnagle A, Sarnak MJ, Shlipak MG, et al. Vitamin D, parathyroid hormone, and cardiovascular events among older adults. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2011;58(14):1433-41. Disponible en: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L362598765%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2011.03.069%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=07351097&id=doi:10.1016%2Fj.jacc.2011.03.069&atitle=Vitamin+D%2C+parath>
263. Wannamethee GS, Welsh PW, Papacosta OP, Lennon L, Whincup PH, Sattar N. Elevated parathyroid hormone, but not vitamin D deficiency, is associated with increased risk of heart failure in older men with and without cardiovascular disease. *Circ Hear Fail*. 2014;7(5):732-9.
264. Bansal N, Zelnick L, Robinson-Cohen C, Hoofnagle AN, Ix JH, Lima JA, et al. Serum parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin d concentrations and risk of incident heart failure: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(6).
265. Witham MD, Ireland S, Graeme Houston J, Gandy SJ, Waugh S, Macdonald TM, et al. Vitamin D therapy to reduce blood pressure and left ventricular hypertrophy in resistant hypertension: Randomized, controlled trial. *Hypertension*. 2014;63(4):706-

12.

266. Witham MD, Crighton LJ, Gillespie ND, Struthers a. D, McMurdo MET. The Effects of Vitamin D Supplementation on Physical Function and Quality of Life in Older Patients With Heart Failure: A Randomized Controlled Trial. *Circ Hear Fail*. 2010;3(2):195-201.
267. Zittermann A, Ernst JB, Prokop S, Fuchs U, Dreier J, Kuhn J, et al. Effect of vitamin D on all-cause mortality in heart failure (EVITA): a 3-year randomized clinical trial with 4000 IU vitamin D daily. *Eur Heart J* [Internet]. 12 de mayo de 2017; Disponible en: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehx235>
268. Aceña Á, Pello AM, Carda R, Lorenzo Ó, Gonzalez-Casaus ML, Blanco-Colio LM, et al. Parathormone Levels Are Independently Associated with the Presence of Left Ventricular Hypertrophy in Patients with Coronary Artery Disease. *J Nutr Health Aging* [Internet]. 2016;20(6):659-64. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27273357>
269. van Ballegooijen AJ, Reinders I, Visser M, Brouwer IA. Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Hear J* [Internet]. 2013;165(5):655-64, 664-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23622902>
270. Meems LMG, Brouwers FP, Joosten MM, Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D, Bakker SJL, et al. Plasma calcidiol, calcitriol, and parathyroid hormone and risk of new onset heart failure in a population-based cohort study. *ESC Hear Fail* [Internet]. 2016;3(3):189-97. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/ehf2.12089>

271. Folsom AR, Alonso A, Misialek JR, Michos ED. Parathyroid hormone concentration and risk of cardiovascular diseases: The Atherosclerosis Risk in Communities ( ARIC ) study. *Am Heart J* [Internet]. 2014;168(3):296-302. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ahj.2014.04.017>
272. Witteveen JE, van Lierop AH, Papapoulos SE, Hamdy NAT. Increased circulating levels of FGF23: an adaptive response in primary hyperparathyroidism? *Eur J Endocrinol* [Internet]. 1 de enero de 2012;166(1):55-60. Disponible en: <http://www.eje-online.org/cgi/doi/10.1530/EJE-11-0523>
273. Cano FJ, Freundlich M, Ceballos ML, Rojo AP, Azocar MA, Delgado IO, et al. Longitudinal FGF23 and Klotho axis characterization in children treated with chronic peritoneal dialysis. *Clin Kidney J* [Internet]. 1 de octubre de 2014;7(5):457-63. Disponible en: <https://academic.oup.com/ckj/article-lookup/doi/10.1093/ckj/sfu074>
274. Ceballos O ML, Rojo L A, Azócar P M, Ibacache M MJ, Delucchi B A, Quiroz Z L, et al. [Mineral metabolism in patients on chronic peritoneal dialysis]. *Rev Chil Pediatr* [Internet]. febrero de 2014;85(1):31-9. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-41062014000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062014000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
275. Inci A, Sari F, Coban M, Olmaz R, Dolu S, Sarıkaya M, et al. Soluble Klotho and fibroblast growth factor 23 levels in diabetic nephropathy with different stages of albuminuria. *J Investig Med* [Internet]. agosto de 2016;64(6):1128-33. Disponible en: <http://jim.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jim-2016-000142>
276. Carpenter TO, Insogna KL, Zhang JH, Ellis B, Nieman S, Simpson C, et al.

Circulating Levels of Soluble Klotho and FGF23 in X-Linked Hypophosphatemia: Circadian Variance, Effects of Treatment, and Relationship to Parathyroid Status. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. noviembre de 2010;95(11):E352-7. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2010-0589>